Tome 73, nº 4. — Avril 1966

Untersuchungen zur Variabilität der Sex Ratio von Planococcus citri (Risso)

(Coccoidea: Homoptera)

von

Walter HÄUSERMANN

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG

Planococcus (= Pseudococcus) citri (Risso), von Balachowsky (1948) systematisch der formenreichsten Familie der Coccoidea, den Lecanoidae, zugeordnet, zeigt die an verschiedenen Vertretern dieser Familie nachgewiesene (Schrader 1921, 1923 *a*, Thomsen 1927; Hughes-Schrader 1935; Brown 1959), im englischen Sprachbereich heute kurz „Lecanoid system" genannte Unterteilung des diploiden Chromosomensatzes der Männchen in n euchromatische und n heterochromatische Chromosomen. Diese Unterteilung wird erst im Verlauf der Embryonalentwicklung der Männchen sichtbar und gipfelt darin, dass in einer atypischen Meiose die beiden Chromosomensätze gesamthaft, ohne Materialaustausch voneinander getrennt und in der Spermiogenese nur die den euchromatischen Chromosomensatz enthaltenden Spermien ausgebildet werden. Bei den Lecanoidenweibchen sind die Chromosomen der beiden haploiden Chromosomensätze cytologisch gleichwertig und es stellt sich die Frage, wie aus cytologisch identischen Eiern, die von nur einer Spermiensorte befruchtet werden, zwei verschiedene Geschlechter hervorgehen können.

Das Problem der Geschlechtsbestimmung bei Lecanoiden hat bereits Schrader (1923 *b*), Thomsen (1927, 1929) und James (1937, 38, 39) beschäftigt, vor seiner heute gültigen Formulierung durch Hughes-Schrader (1948). Diese Autorin neigt vor allem angesichts der Beobachtungen von James über den Einfluss des Begattungsalters der Weibchen auf die Sex Ratio zur Ansicht, der Geschlechtsbestimmungsmechanismus sei genetisch nicht stabil, und durch Umwelteinflüsse modifizierbar.

Nelson-rees (1960, 1961) stellt ähnlich wie James einen statistisch signifikanten Einfluss von Begattungsalter und Temperatur auf die Sex Ratio von *Pl. citri* fest, und beobachtet, dass die Männchenrate in der Nachkommenschaft eines Weibchens während der Eiablage abhängig vom Begattungsalter gewissen Schwankungen unterworfen ist. Nach seiner Vorstellung bestimmen veränderliche, ihrerseits umweltabhängige Faktoren im Innern des Eies oder Ovariole bei der Befruchtung das Geschlecht der Zygote. Insbesondere glaubt er, dass der Nahrung unter den Umweltfaktoren wesentlichen Einfluss auf die Geschlechtsbestimmung zukommt. Nach gleichzeitig durchgeführten Bestrahlungsversuchen an *Pl. citri* (Brown and Nelson-Rees 1961) ist es der vom Vater stammende, euchromatische Chromosomensatz, der in der nächsten Männchengeneration zum genetisch inaktiven, heterochromatischen Chromosomensatz wird.

Brown and Nur (1964) geben in einer, die Ergebnisse verschiedener Einzelstudien zusammenfassenden Arbeit einen Ueberblick über den Vorgang der Heterochromatisierung und die Funktion des Heterochromatins bei verschiedenen Coccidenarten. In Bezug auf das Problem der Geschlechtsbestimmung bei bisexuellen Lecanoidenarten sprechen sie dabei die Vermutung aus, dass die Weibchen in variabler Zahl zwei verschiedene Eitypen produzieren und, dass eine Substanz in einem dieser Eitypen die Heterochromatisierung des väterlichen Chromosomensatzes induziert und damit die Entwicklung der Zygote zum Männchen bewirkt.

Die Beobachtung, dass bei gewissen Stictococcinen die Infektion oder Nichtinfektion der Oocyten durch einen bestimmten Symbionten mit der Geschlechtsbestimmung Hand in Hand geht (Buchner 1954), wird von Hartmann (1956) als ein Beispiel modifikatorischer Geschlechtsbestimmung angeführt. Buchner (1962) nimmt seinerseits an, dass modifikatorische Faktoren bei der Geschlechtsbestimmung der Schildläuse ganz allgemein eine bedeutende Rolle spielen.

Als weiterer Beitrag zum Problem der Geschlechtsbestimmung der Lecanoiden geht diese Arbeit davon aus, dass James und Nelson-Rees in ihren Versuchen stets nur ein Ansteigen der Männchenrate erreicht haben. Im Zusammenhang mit der Frage nach dem von Nelson-Rees postulierten Nahrungseinfluss soll nun die gesamte Variations- bzw. Modifikationsbreite der Sex Ratio

einer Population von *Pl. citri* bestimmt und der Einfluss einzelner Faktoren im Rahmen der Gesamtvariabilität diskutiert werden. Ausgangspunkt der Untersuchungen über den Nahrungseinfluss bilden dabei die Ergebnisse einiger Probeauszählungen, die für Nachkommenschaften von auf Kartoffel aufgewachsenen Weibchen eine deutlich geringere Sex Ratio ergeben haben, als für die auf Coleus gehaltenen Weibchen bei JAMES.

Die Arbeit entstand unter Anleitung meines verehrten Lehrers Prof. Dr. R. Geigy am schweizerischen Tropeninstitut in Basel. Für seine Unterstützung und wertvollen Ratschläge möchte ich ihm hier meinen herzlichen Dank aussprechen. Mein Dank gilt auch den Herren Dr. P. Schmid, Lektor für Statistik an der Universität Basel, der mich bei der Auswertung der Ergebnisse beriet, Dr. Chr. Zeller, mit dem ich einige ergiebige Diskussionen haben konnte, sowie Dr. R. Wyniger von der biologischen Abteilung der Firma J. R. Geigy A.G. Basel, der das Ausgangsmaterial zur eigenen Zucht von *Pl. citri* zur Verfügung stellte und mir stets mit praktischen Winken zur Seite stand.

2. MATERIAL UND METHODEN

2. 1. ZUCHT- UND VERSUCHSBEDINGUNGEN

Das Klima des als Zucht- und Versuchsraum verwendeten Gewächshauses des schweizerischen Tropeninstitutes zeigte naturgemäss eine gewisse Abhängigkeit von der Aussenwelt, doch hatten seine Schwankungen keinen von vornherein sichtbaren Einfluss auf die Biologie von *Pl. citri.* Die mittlere Tagestemperatur betrug sowohl im Sommer- wie im Winterhalbjahr rund 25° C, während die täglichen Temperaturschwankungen mit maximal 5° im Winter wesentlich geringer ausfielen als im Sommer mit maximal 18°. Die Luftfeuchtigkeit war im Sommer ebenfalls stärkeren Schwankungen unterworfen als im Winter und lag im Mittel bei rund 70% rLF.

Die Züchtung von *Pl. citri* erfolgte anfänglich in einer, später in zwei getrennten auf ein gemeinsames Weibchen zurückgehenden Kolonien auf der Kartoffel, *Solanum tuberosum*, und auf der Buntnessel, *Coleus spec.* Die beiden Pflanzenarten werden im Folgenden meist mit den Symbolen K und C bezeichnet. Die Gründung einer

Kolonie durch ein begattetes Weibchen gefolgt von steter Inzucht dürfte auch unter natürlichen Bedingungen recht häufig vorkommen. Als Zuchtkäfige wurden aus 2mm Fensterglas geleimte Glasprismen mit einer Grundfläche von 20 × 30 cm und einer Höhe von 40 cm verwendet. Nach oben waren sie mit Cellophanpapier ausbruchssicher überklebt und unten standen sie 1—2 cm tief in feinem Sand. Das Cellophanpapier erlaubte einerseits einen für die Entfaltung der Wirtspflanze genügenden Gasaustausch und verhinderte andrerseits ein starkes Absinken der Luftfeuchtigkeit. Innerhalb der Glaskäfige wurde nie eine rLF unter 60% gemessen. In die Käfige konnten bequem zwei Töpfe mit Wirtspflanzen gestellt werden, die wegen der hohen Vermehrungsquote im Zyklus der Generationenfolge ersetzt werden mussten. Es war praktisch unmöglich, eine gleichmässige Altersstruktur der Kolonien über längere Zeit aufrecht zu erhalten.

In Wahlversuchen wurden die verschiedensten Pflanzenarten befallen, darunter auch solche, auf denen die Mortalitätsquote die Vermehrungsquote überwog, so dass der Befall ohne stetige Zuwanderung nicht über mehrere Generationen erhalten blieb. Im Zwangsversuch stachen Erstlarven sogar künstliche Membranen an und sogen von den darunter angebotenen Nährlösungen. Trotz vielfältiger Versuchsdispositive und Kombinationen von Nährlösungen gelang es nicht *Pl. citri* seine Entwicklung getrennt von der Wirtspflanze durchlaufen zu lassen. Gleiche Erfahrungen sind auch mit andern Pflanzenläusen gemacht worden (Lindemann 1948; Maltais 1952; Disselkamp 1954).

Zum Auszählen der Nachkommenschaften isolierter Weibchen in Serienversuchen wurden als Wirtspflanzen C und K verwendet. Je vier Pflanzen wuchsen dabei in einem Abstand von ca. 12 cm in rechteckigen Blumenkistchen von 50 cm Länge und 14 cm Breite. Sobald die Pflanzen mit Versuchstieren besiedelt waren, wurden viereckige Glasprismen obiger Fabrikationsart von 10 cm Seitenlänge und 25 cm Höhe darübergestülpt. Zum Abschluss nach unten wurden sie in die fein gesiebte Erde eingedrückt und oben ebenfalls mit Cellophanpapier überklebt. Larven, frisch gehäutete Adultweibchen und Männchen wurden mit einem feinen, angefeuchteten Pinsel von Pflanze zu Pflanze übertragen; die wesentlich grösseren eiablagebereiten Weibchen ertrugen auch das Anfassen mit einer Spitzpinzette ohne sichtliche Schäden. Das Auszählen der Nach-

kommenschaften isolierter Weibchen erfolgte wöchentlich zweimal im Abstand von 3 bzw. 4 Tagen, sobald die ersten männlichen Zweitlarven ihre flaumigen Coccons bildeten. Die ausgezählten Tiere, Adultweibchen oder männliche Zweitlarven, Pronymphen und Nymphen, wurden jeweils entfernt und getötet. Wurden für einzelne Versuche Adultmännchen gebraucht, so kamen die ausgezählten männlichen Entwicklungsstadien, die ja nicht mehr auf eine Wirtspflanze angewiesen sind, bis zum Entwicklungsabschluss auf Papierstreifen in kleine, dicht verschlossene Gläser.

2. 2. Methoden

Für Untersuchungen über den Modus einer Geschlechtsbestimmung stehen die Arbeitsmethoden der Cytologie, der Genetik und der Oekologie zur Verfügung. Das besondere cytologische Geschehen bei Lecanoiden erlaubt es indessen nicht, mit den klassischen genetischen Methoden ergänzende Auskünfte über den Vorgang der Geschlechtsbestimmung zu erlangen, und ökologische Arbeitsmethoden versprechen als einzige noch einigen Aufschluss.

Für diese sind folgende Überlegungen wegleitend:

Die Sex Ratio in der Tochtergeneration eines Weibchens ist als Leistungsmerkmal aufzufassen, das wie jedes andere Merkmal durch Genotyp und Umwelt bestimmt wird. Der Merkmalsdurchschnittswert einer Population entspricht dem Erwartungswert ihres Genotyps, indess die Abweichungen einzelner Nachkommenschaften, die Modifikationen, durch ihre Extremwerte die ebenfalls vom Genotyp definierten Grenzen der Reaktionsnorm angeben. Je nach Versuchsanlage können dann der Erwartungswert des Genotyps, die Grenzen der Reaktionsnorm oder die Wirkung einzelner Umweltfaktoren abgeschätzt werden.

Der allgemein gebräuchliche Begriff der Sex Ratio, definiert als Anzahl Männchen/100 Weibchen ist für eine statistische Auswertung ungeeignet. An seiner Stelle wird wie bei Nelson-Rees der Begriff der relativen Männchenhäufigkeit verwendet. Diese ist definiert als Anzahl Männchen/Nachkommentotal und wird im Folgenden durch das Symbol rMH bezeichnet. Wie die graphische Darstellung der Ergebnisse der Überalterungsversuche von Nelson-Rees (1960) augenfällig illustriert, berechtigen statistisch nachgewiesene Unterschiede der rMH allein nicht ohne weiteres

zu Rückschlüssen auf den Modus der Geschlechtsbestimmung. Eine zuverlässige Interpretation der Variabilität der Sex Ratio ist nur möglich, wenn neben den Unterschieden der mittleren rMH zwischen verschiedenen Stichproben auch jene des Nachkommentotals, abgekürzt Nt, mitberücksichtigt werden. Da die Vorversuche zur künstlichen Ernährung von *Pl. citri* fehlgeschlagen haben, besteht im Augenblick keine Möglichkeit zu kontrollierter qualitativer und quantitativer Variation der Nahrung. Allfällige Unterschiede der Ernährung können nur aus den Reaktionen der Versuchstiere — Lebenszyklus, Fertilität und Sex Ratio — erschlossen werden, d. h. der Nachweis unterschiedlicher Ernährung ist durch Unterschiede in Lebenszyklus und Fertilität zu erbringen. Den Versuchen über die Variabilität der Sex Ratio werden deshalb Untersuchungen über den Nahrungseinfluss auf Lebenszyklus und Fertilität vorangestellt. Möglichkeiten zur Variation der Nahrung geben die Wahl verschiedener Wirtspflanzenarten und das Halten einer Wirtspflanzenart in verschiedenen Nährlösungen. Auf Anlage und Fragestellung der einzelnen Versuche wird an entsprechender Stelle eingegangen.

Parallel zu den ökologischen Untersuchungen wird eine cytologische Kontrolle des Versuchsmaterials durchgeführt. Sie erstreckt sich auf Darstellungen der Spermatogenese, der Oogenese, der Begattung und der Befruchtung. Durch sie sollen die untersuchte Population cytologisch eindeutig beschrieben und einige cytologische Detailfragen näher abgeklärt werden. Angaben über die histologische und cytologische Technik erfolgen ebenfalls an entsprechender Stelle.

3. LEBENSZYKLUS UND FERTILITÄT

3. 1. Der Lebenszyklus

Da der Reaktionstyp von *Pl. citri* in keiner Weise fixiert ist, sind Lebenszyklus und Generationenzahl pro Jahr stark umweltabhängig. Nach Bodenheimer (1929) schwankt der Lebenszyklus in den Citrusplantagen Palästinas je nach Jahreszeit zwischen 26 und über 100 Tagen. Nach Nelson-Rees (1960) zählt der Lebenszyklus im Gewächshaus bei einem Temperaturmittel von 23,5° C und der Kartoffel als Wirtspflanze im Mittel

44 Tage. Über die Dauer der einzelnen Entwicklungsstadien und des Lebenszyklus unter den in 2. 1. beschriebenen Versuchsbedingungen informiert Tabelle 1.

TABELLE 1

Dauer der Entwicklungsstadien und des Lebenszyklus auf der Kartoffel in Tagen (Variationsbreiten) (eingeklammerte Zahlen = Werte für Coleus)

♀	Ei	Erstlarve	Zweitlarve	Drittlarve	Imago — Eiablage	Ei — 1. Ei
	1—9	5—10	4—7	4—7	8—12 (11—19)	26—30 (32—49)
♂	Ei	Erstlarve	Zweitlarve	Pronymphe	Nymphe	Imago
	1—9	5—10	6—8	2—5	2—5	3—7

Für die Eientwicklung wurde eine spezielle Beobachtungsreihe angestellt. Die übrigen Zahlenangaben beruhen auf den Protokollen der zweimal wöchentlich kontrollierten Auszählungsversuche zur Bestimmung der Sex Ratio.

Die Daten stimmen annähernd mit den Angaben von BODENHEIMER und von GRAY (1954) überein, liegen aber beträchtlich unter den von JAMES und NELSON-REES angegebenen Werten.

Während zwischen auf C und K saugenden Individuen kaum ein Unterschied in der Dauer der Postembryonalentwicklung festzustellen ist, wird bei andern Wirtspflanzen, z. B. *Gossypium marsupiale*, *Sedum spectabilis* oder *Pelargonium zonale*, die Postembryonalentwicklung wesentlich verlängert. Auffällig ist bei C und K der Unterschied in der Zeitspanne zwischen letzter Häutung und Eiablagebeginn. Da das Wachstum der Ovariolen und Oogonien (vgl. 5. 3.) erst nach der dritten und letzten Häutung einsetzt, ist diese Zeitspanne als wirtspflanzenabhängige Reifeperiode des Weibchens anzusehen. Die Begattung kann bereits unmittelbar nach der Häutung stattfinden. Ist dies aber erst später im Verlauf der Reifeperiode der Fall, so wird der Eiablagebeginn dadurch praktisch nicht verzögert. Erfolgt die Begattung erst nach der zur

Reife nötigen Zeit, so setzt die Eiablage bereits 2—3 Tage darauf ein, wie aus der Zusammenstellung in Tabelle 2 zu ersehen ist.

TABELLE 2

Die Reifeperiode des Weibchens. Aufeinanderfolge von Begattung und Eiablagebeginn in Tagen nach der Häutung zur Imago

Begattung in Tagen nach der Häutung	Eiablagebeginn	
	KARTOFFEL	COLEUS
0	8—12	11—19
6	9—12	12—20
12	16—20	14—20
20	22—25	24—29
30	32—34	33—35
50		54—57

Die Zahlenangaben beruhen auf je 10 täglich zweimal kontrollierten Weibchen.

Die scheinbar grosse Variationsbreite in der Eientwicklung ist darauf zurückzuführen, dass die Embryonalentwicklung im Augenblick der Eiablage verschieden weit fortgeschritten ist. Nach über die Reifeperiode hinaus verzögerter Begattung wird die Zeitspanne bis zur Eiablage kürzer, die Dauer der Eientwicklung im Mittel aber länger. Die Ablage eines Eies bzw. eines Embryos ist damit vom Stadium der Embryonalentwicklung weitgehend unabhängig. Das Entwicklungsstadium frisch abgelegter Embryonen variiert von den ersten Furchungsteilungen bis zum nahezu schlüpfbereiten Embryo. Die Dauer der Eiablage ist von Weibchen zu Weibchen sehr verschieden, und es kann kein Unterschied zwischen den Wirtspflanzenarten K und C festgestellt werden.

NELSON-REES konnte unbegattete Weibchen bis zu fünf Monaten am Leben erhalten; in eigenen Versuchen gelang dies für maximal 4 Monate. Bereits 28 Tage nach der Häutung zur Imago sonderten die ersten unter diesen überalterten Weibchen eine flaumige Gelegehülle ab, ohne Eier zu legen. Die Nahrungsaufnahme wurde spätestens nach 3 Monaten eingestellt. In diesem Zeitpunkt konnten keine Begattungen mehr beobachtet werden,

wenn Männchen dazu gegeben wurden. Die Individuen, die am längsten am Leben blieben, hatten keine Gelegehüllen gebildet.

3. 2. Die Fertilität

Als Masse für den im deutschen Sprachbereich wenig präzis gefassten Begriff Fertilität werden im Folgenden entweder das Total der von einem Weibchen abgelegten Eier, abgekürzt Et, oder das Total seiner Nachkommen, Nt, verwendet.

Die Fertilität von *Pl. citri* schwankt zwischen einigen wenigen und über 900 Nachkommen pro Weibchen. Diese im wesentlichen sicher umweltbedingte Variabilität der Fertilität muss bei einer Interpretation der Variabilität der Sex Ratio mitberücksichtigt werden. Die folgenden Versuche dienen zum Nachweis der unter den gegebenen Klimabedingungen für die Fertilität eines Weibchens massgebenden Umweltfaktoren.

3. 2. 1. Die Abhängigkeit der Fertilität von Wirtspflanzenart und Befallsdichte

Die in einer Population stets vorhandenen, auffälligen Grössenunterschiede der Weibchen bei Eiablagebeginn, lassen von vornherein eine grosse Variabilität der Eiproduktion erwarten. Sie sind wohl zur Hauptsache auf die Ernährung zurückzuführen. Ihr Zusammenhang mit Art und Zustand der Wirtspflanze und dem Standort der Laus auf der Pflanze ist offensichtlich: Kartoffelweibchen sind im Mittel grösser als Coleusweibchen, und auf Blättern saugende Weibchen sind fast durchwegs kleiner als am Stengel saugende. Die bei grosser Befallsdichte grössere Anzahl kleiner Weibchen mag zum Teil auf die Raumbeschränkung und gegenseitige Störungen zurückzuführen sein, ist zur Hauptsache aber sicher der durch starken Befall bedingten Konditionierung der Nahrung zuzuschreiben.

Um für den Vergleich der Wirtspflanzenarten K und C unter diesen Bedingungen möglichst repräsentative Stichproben zu erhalten, wurden zwei verschiedene Wege zur Auswahl des Stichprobenmaterials beschritten.

Versuch 1: Die Fertilität von *Pl. citri* in Abhängigkeit von der Wirtspflanzenart bei grosser Befallsdichte

In diesem Versuch wurden im Zeitpunkt grösster Befallsdichte bzw. bei den ersten Anzeichen einer Schädigung der Wirtspflanze durch den Befall und beim Verlassen der Wirtspflanze durch die aktiven Entwicklungsstadien alle mit der Eiablage beginnenden Weibchen den beiden Kolonien auf K und C entnommen und isoliert. Um gleichzeitig Aufschluss über die Mortalität der Embryonen und der Larven zu erhalten, wurden in einer ersten Versuchsserie die Eier und in einer Wiederholung die Nachkommenschaften nach Abschluss der Postembryonalentwicklung ausgezählt. Die Versuchsanlage setzt sich aus zwei A-Stufen (Wiederholungen) und zwei B-Stufen (Wirtspflanzen) zusammen. Jede Versuchsgruppe (Stufenkombination) umfasst 30 Weibchen. Versuchsanlage und Ergebnisse sind aus Tabelle 3 ersichtlich.

TABELLE 3

Die Fertilität von Pl. citri *in Abhängigkeit von der Wirtspflanzenart bei grosser Befallsdichte (Versuch 1)*

Die Mittelwerte und Variationsbreiten der 4 Versuchsgruppen mit n = 30

A-Stufen		B-Stufen		Mittelwerte A-Stufen
		KARTOFFEL	COLEUS	
GELEGE Et	$\bar{x}$	264	200	232
	Δ	136—504	71—394	
NACHKOMMEN Nt	$\bar{x}$	292	184	238
	Δ	111—572	69—358	
Mittelwerte B-Stufen	$\bar{x}$	278	192	

Die statistische Auswertung mit der doppelten Varianzanalyse und dem anschliessenden Homogenitäts-Test (F-Test) ergibt für Wechselwirkung und die Unterschiede zwischen den A-Stufen keine Signifikanz. Die Unterschiede zwischen den B-Stufen indessen sind bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0{,}01$ deutlich signifikant.

Versuch 2: Die Fertilität von *Pl. citri* auf Kartoffel und Coleus unter speziell günstigen Verhältnissen

Im zweiten Versuch wurden, um für die Wirtspflanzenart repräsentative Stichproben zu gewährleisten, jeweils fünf frisch gehäutete

Adultweibchen zusammen mit 2—3 Männchen auf einer gesunden Pflanze isoliert. Ausgezählt wurde nur das Gelege des grössten dieser Weibchen, so dass mit Ausnahme der Wirtspflanzen für beide Stichproben speziell günstige Umweltbedingungen vorausgesetzt werden dürfen.

Unterschiedliche Behandlung der Weibchen nach Eiablagebeginn sollte in diesem Versuch zusätzlich zeigen, wie sich Störungen während der Eiablage, wie sie in Versuch 1 möglicherweise zur Geltung gekommen sind, auf die Fertilität der Weibchen auswirken.

Die Versuchsanlage wurde ebenfalls auf eine statistische Auswertung mit der doppelten Varianzanalyse ausgerichtet. Drei verschiedene Stufen der Störung der Weibchen nach Eiablagebeginn stellen die A-Stufen dar.

In der ersten A-Stufe, bezeichnet als UNGESTÖRT, wurde die Nachkommenschaft erst nach dem natürlichen Tod des Weibchens ausgezählt.

In der zweiten A-Stufe, bezeichnet als GESTÖRT, wurden den Weibchen das Gelege samt Flaumhülle zweimal wöchentlich weggenommen und die Eier sofort ausgezählt.

In der dritten A-Stufe, bezeichnet als GETRENNT, wurden die Weibchen nach Eiablagebeginn von der Pflanze abgelöst und in kleine Glastuben gebracht. Ihr Gelege wurde ebenfalls zweimal wöchentlich entfernt und ausgezählt.

TABELLE 4

Die Fertilität von Pl. citri *auf Kartoffel und Coleus unter speziell günstigen Verhältnissen (Versuch 2)*

Die Mittelwerte und Variationsbreiten der 6 Versuchsgruppen mit n = 10

A-Stufen		B-Stufen		Mittelwerte A-Stufen
		KARTOFFEL	COLEUS	
UNGESTÖRT	$\bar{x}$	564	407	485
Nt	Δ	348—814	273—718	
GESTÖRT	$\bar{x}$	596	408	502
Et	Δ	434—824	227—581	
GETRENNT	$\bar{x}$	571	440	506
Et	Δ	420—845	336—609	
Mittelwerte B-Stufen	$\bar{x}$	577	418	

Bei gleicher statistischer Auswertung wie bei Versuch 1 sind wiederum nur die Unterschiede zwischen den B-Stufen signifikant ($\alpha = 0{,}01$).

Die beiden Wirtspflanzenarten K und C bilden die B-Stufen. Jede Versuchsgruppe (Stufenkombination) umfasst 10 Versuchseinheiten (Weibchen + Wirtspflanze). Versuchsanlage und Ergebnisse sind aus Tabelle 4 ersichtlich.

Aus diesen beiden Versuchen geht hervor, dass, unter Voraussetzung einer primären Abhängigkeit der Fertilität von der Ernährung, diese durch die Wahl der Wirtspflanze zwar deutlich aber nur in beschränktem Ausmass kontrolliert wird. Die Versuche haben weiter gezeigt, dass die Mortalität der Embryonen und Larven aus dem Vergleich des mittleren Et und des mittleren Nt von zwei unter experimentell möglichst gleichen Bedingungen durchgeführten Stichproben nicht erschlossen werden kann. Sie ist anscheinend wesentlich geringer als die Variabilität der Fertilität unter diesen Bedingungen. Besonders zu beachten ist, dass das Et eines Weibchens bereits bei Eiablagebeginn bestimmt ist, und durch die Behandlung des Weibchens nach Eiablagebeginn in der Regel keine Änderung mehr erfährt. Die sehr variable Dauer der Eiablage scheint für das Total der abgelegten Eier belanglos zu sein.

3. 2. 2. Die Abhängigkeit der Fertilität vom Begattungsalter der Weibchen

Nach Nelson-Rees (1960) steigt die Fertilitätskurve der Weibchen in Abhängigkeit vom Begattungsalter zu Beginn sehr steil an, überschreitet rasch ihr Maximum und fällt dann, allmählich flacher werdend, bis weit unter ihre Anfangshöhe ab. Die Versuche 1 und 2 haben ihrerseits gezeigt, dass die Fertilität der Weibchen durch die Ernährung in der Reifeperiode bestimmt wird. Es darf deshalb eine Korrelation zwischen dem Gewicht der Weibchen bei Eiablagebeginn und ihrer Fertilität erwartet werden, die es gestattet, auf Grund eines Regressionsvergleichs die Wirksamkeit der Nahrung von der zusätzlichen Wirkung weiterer Faktoren wie z. B. des Begattungsalters zu unterscheiden.

Versuch 3:

Im dritten Versuch wurden 6 mal 12—15 frisch gehäutete Adultweibchen auf je einem C-Steckling isoliert und in bestimmten Zeitab-

ständen nach der Häutung 20—30 adulte Männchen zugegeben. Sofort nach Eiablagebeginn wurden die 10 grössten dieser Weibchen mitsamt den ersten Eiern gewogen, anschliessend in eine Glastube gebracht und ihre Gelege zweimal wöchentlich entfernt und ausgezählt. Der genaue Zeitpunkt der Begattung konnte nicht bei allen Weibchen beobachtet werden, die gemachten Beobachtungen sprechen jedoch dafür, dass alle Weibchen binnen 24 Stunden nach dem Zusammenbringen mit Männchen

Tabelle 5

Die Abhängigkeit der Fertilität vom Begattungsalter und ihre Korrelation zum Gewicht der Weibchen bei Eiablagebeginn (Versuch 3)

Mittelwerte und Variationsbreiten von Gewicht und Fertilität in sechs Versuchsgruppen mit n = 10

	Zeitpunkt der Begattung in Tagen nach der Häutung					
	0	6	12	20	30	50
Gewicht $\bar{x}$ in mg	1,92 1,20—4,10	1,88 0,60—3,30	2,22 1,45—3,10	2,26 1,10—4,05	1,28 0,60—1,95	2,50 1,05—4,15
Fertilität $\bar{y}$ Et	275 149—658	258 68—529	304 197—426	269 123—436	131 63—245	173 36—253
Korrelations-koeffizient r	0,99	0,97	0,90	0,94	0,67	0,83
Regressions-koeffizient b_{yx}	1,77	1,50	1,26	1,14	0,83	0,64
Fertilität bez. Gesamtmittel d. Gewichts $y_{\bar{x}}$	290	277	278	240	192	142

Bei der statistischen Auswertung mit der einfachen Varianzanalyse und daran geknüpftem Homogenitäts-Test erweisen sich einzelne Gewichtsunterschiede bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0{,}05$ als knapp, und einzelne Fertilitätsunterschiede bei $\alpha = 0{,}01$ als deutlich signifikant.

begattet worden sind. 6—12 Tage nach der Häutung folgt die Begattung sogar sehr rasch auf das Zusammenbringen der Geschlechter, wobei sich meist verschiedene Männchen um ein Weibchen zusammenrotten, und nacheinander mehrere Kopulationen stattfinden können. Es scheint, dass in dieser Zeit Männchen anlockende und Kopulation stimmulierende

Duftstoffe von den Weibchen in besonders starkem Masse abgegeben werden. Versuchsanlage und Ergebnisse sind aus Tabelle 5 und Fig. 1 ersichtlich. Die in Tabelle 2 angeführten Zeitangaben über die Aufeinanderfolge von Begattung und Eiablagebeginn für die Wirtspflanze Coleus stammen aus diesem Versuch.

Im Gegensatz zu den Feststellungen von NELSON-REES sinkt die Fertilität der hier untersuchten Rasse nach jeder Verzögerung der Begattung ab. Wie aus den Neigungen der Regressionsgeraden (vgl.Abb. 1) zu ersehen ist, kommt dem Zeitpunkt der Begattung,

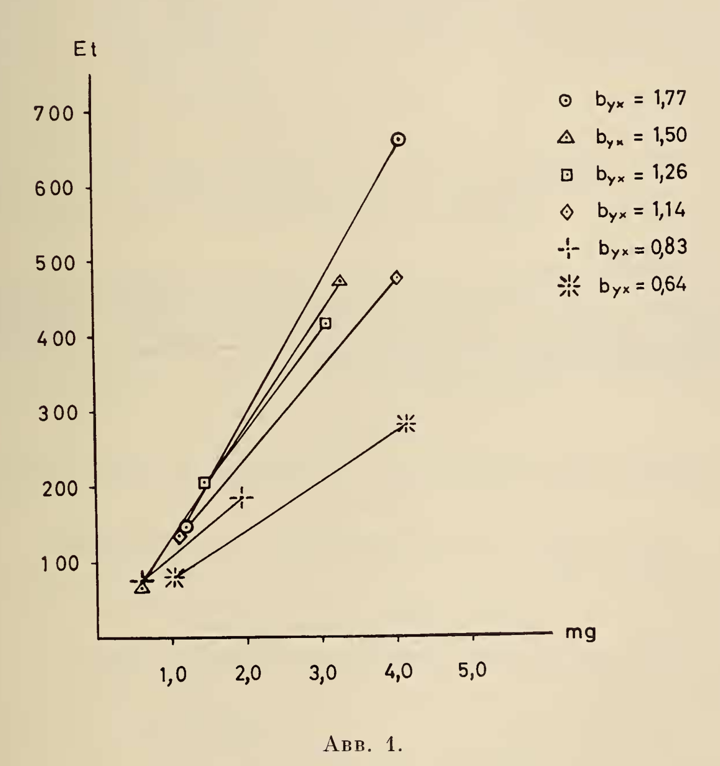


ABB. 1.

Die Regression zwischen Gewicht und Fertilität bei unterschiedlichem Begattungsalter

sobald diese nach Abschluss der Reifeperiode stattfindet, nur sekundär fertilitätsbeschränkende Bedeutung zu. Der altersbedingte Fertilitätsverlust ist individuell sehr variabel.

4. UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE VARIABILITÄT DER SEX RATIO

4. 1. Die Abhängigkeit der Sex Ratio von der Begattung

Versuch 4:

Ein Versuch über die Abhängigkeit der Sex Ratio vom Begattungsalter wurde auf Grund der Ergebnisse von Versuch 1*a* und 2*a* gegenüber den entsprechenden Versuchen von James und Nelson-rees etwas modifiziert. In fünf Versuchsgruppen wurden, abhängig vom augenblicklichen Angebot an frisch gehäuteten, unbegatteten Weibchen in der Coleuskolonie, nach und nach je 10—15 Weibchen unter fünf verschiedenen Bedingungen mit Männchen zur Begattung zusammengebracht.

In Gruppe 1 wurden die Weibchen unmittelbar nach ihrer letzten Häutung zusammen mit einem Überschuss an Adultmännchen in einem kleinen Glasgefäss für 24 Stunden eingeschlossen und anschliessend einzeln auf C-Stecklingen isoliert. Solchermassen war Gewähr dafür geboten, dass die Weibchen innert 24 Stunden nach der Häutung begattet wurden.

In Gruppe 2 wurden die Weibchen nach der Häutung einzeln auf C-Stecklinge verbracht und bis zum Eiablagebeginn laufend mit Männchen versehen, so dass die Möglichkeit zu mehreren Begattungen im Verlauf der Reifeperiode gegeben war.

Tabelle 6

Die Variabilität der Sex Ratio in Abhängigkeit von der Begattung (Versuch 4)

Die Mittelwerte und Variationsbreiten in 5 Versuchsgruppen

Versuchsgruppe		1	2	3	4	5
Stichprobenumfang n		15	10	15	12	11
Nt	$\bar{x}$	315	202	217	230	183
	Δ	153—683	108—284	50—534	118—339	90—382
aMH	$\bar{x}$	95	67	94	54	100
	Δ	20—290	25—107	26—358	10—125	39—285
rMH	$\bar{x}$	0,2816	0,3122	0,4611	0,2492	0,5165
	Δ	0,070—0,543	0,231—0,446	0,189—0,670	0,030—0,532	0,239—0,881

Die statistische Auswertung mit der einfachen Varianzanalyse und daran anschliessendem Homogenitätstest gibt Signifikanz für die Unterschiede der rMH zwischen den Begattungsgruppen ($\alpha = 0{,}01$).

In Gruppe 3 wurden die Weibchen ebenfalls sofort nach der letzten Häutung isoliert, aber erst 8 Tage später, also mitten in der Reifeperiode mit mehreren Männchen zusammengebracht.

In den Gruppen 4 und 5 schliesslich wurden mehrere Weibchen unmittelbar nach ihrer letzten Häutung zusammen auf die gleiche Pflanze gebracht. Die Adultmännchen wurden 30 bzw. 50 Tage später im Überschuss zugesetzt. Diese Weibchen wurden erst bei Eiablagebeginn von ihrer gemeinsamen Pflanze abgelöst und zur Aufzucht ihrer Nachkommenschaft einzeln auf C-Stecklingen gehalten.

Alle Nachkommenschaften wurden wie bei den Versuchen 1*a* und 2*a* nach entsprechender Zeit ausgezählt. Versuchsanlage und Ergebnisse sind aus Tabelle 6 ersichtlich.

4. 2. Die Abhängigkeit der Sex Ratio von der Wirtspflanzenart

Die Fertilitätsunterschiede der auf C und K gehaltenen Weibchen beweisen, dass zwischen diesen Wirtspflanzen qualitative oder (und) quantitative Unterschiede im Nahrungsangebot an *Pl. citri* bestehen, die für Untersuchungen über den Nahrungseinfluss auf die Sex Ratio benützt werden können.

Versuch 1 *a*: Die Sex Ratio in den Zuchtkolonien auf C und K.

Tabelle 7

Die Variabilität der Sex Ratio in den beiden Zuchtkolonien auf Coleus und Kartoffel (Versuch 1a)

Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationsbreiten

	KARTOFFEL			COLEUS		
	Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH
$\bar{x}$	292	118	0,4059	184	87	0,4823
s	106	45	0,0907	68	38	0,0910
Δ	111—572	20—213	0,106—0,503	69—358	38—162	0,349—0,683

Anhand der Auszählungsergebnisse der zweiten A-Stufe von Versuch 1 wird zunächst einmal geprüft, ob zwischen den B-Stufen (Wirtspflanzen K und C) bezüglich der rMH ebenfalls signifikante Unterschiede bestehen. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 7 ersichtlich.

Der statistische Vergleich der Mittelwerte mit dem t-Test zeigt bei homogenen Varianzen bezüglich aller drei gemessenen Grössen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Wirtspflanzen K und C.

Versuch 2 *a*: Die Sex Ratio bei unter speziell günstigen Verhältnissen aufgewachsenen Weibchen.

Die Auswertung der Auszählungsergebnisse an Nachkommenschaften von je 10 unter für die Fertilität speziell günstigen Umweltbedingungen auf K und C aufgewachsenen Weibchen (Versuch 2, 1. A-Stufe) zeigt im Gegensatz zu Versuch 1*a* keine Abhängigkeit der Sex Ratio von der Wirtspflanzenart. Die Auswertung der Ergebnisse ist in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8

Die Variabilität der Sex Ratio bei unter speziell günstigen Bedingungen aufgewachsenen Weibchen auf beiden Wirtspflanzen (Versuch 2a)

Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationsbreiten

	KARTOFFEL			COLEUS		
	Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH
$\bar{x}$	564	151	0,2594	407	92	0,2538
s	147	124	0,1363	145	60	0,1628
Δ	348—814	25—357	0,055—0,437	273—718	29—213	0,045—0,502

Im Gegensatz zu Versuch 1 *a* (Tabelle 7) sind bei gleicher statistischer Auswertung keine rMH-Unterschiede zwischen den beiden Wirtspflanzenarten festzustellen. Auffällig sind in diesem Versuch die geringe mittlere rMH sowie einige extrem tiefe rMH in einzelnen Nachkommenschaften auf beiden Wirtspflanzenarten (vgl. 9. 2.).

TABELLE 9

Die Variabilität der Sex Ratio auf K und C in verschiedenen Kolonien und zu verschiedenen Zeiten (Versuch 5)

Die Mittelwerte und Variationsbreiten in 6 Versuchsgruppen mit n = 10

A-Stufen		B-Stufen						Mittelwerte A-Stufen		
		KARTOFFEL			COLEUS					
		Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH
I	$\bar{x}$	311	134	0,4484	183	87	0,4710	247	110	0,4597
	Δ	97—471	62—197	0,296—0,639	120—258	50—129	0,376—0,593			
II	$\bar{x}$	227	74	0,3438	171	74	0,4326	199	74	0,3882
	Δ	130—538	32—199	0,171—0,708	103—257	42—106	0,346—0,552			
III	$\bar{x}$	305	107	0,3477	153	69	0,4449	229	88	0,3963
	Δ	181—472	49—196	0,240—0,475	105—210	41—102	0,265—0,497			
B-Stufen Mittelwerte	$\bar{x}$	281	105	0,3800	169	76	0,4495			

Versuch 5: Die Variabilität der Sex Ratio auf K und C in verschiedenen Kolonien und zu verschiedenen Zeiten

Im Anschluss an Versuch 1*a* wurden zu verschiedenen Jahreszeiten, Dezember, April, August, je einige Weibchen aus den beiden ursprünglichen Zuchtkolonien als P-Generation auf C-Stecklingen bzw. jungen K-Pflanzen isoliert und sich selbst überlassen. Die Weibchen der F_{21} wurden sodann bei Eiablagebeginn von dieser Pflanze abgelöst und 10 davon in zufälliger Auswahl zum Auszählen ihrer Nachkommenschaften auf je eine weitere Pflanze der gleichen Art gebracht.

Die Versuchsanlage setzt sich aus 3 A-Stufen (Wiederholungen) und 2 B-Stufen (Wirtspflanzenarten) und 6 Stufenkombinationen (Kolonien) zusammen. Versuchsanlage und Ergebnisse sind in Tabelle 9 dargestellt.

Die statistische Auswertung mit der doppelten Varianzanalyse und anschliessendem Homogenitäts-Test (F-Test) ergibt keine Signifikanz für die Wechselwirkung. Die Unterschiede zwischen den A-Stufen (Wiederholung) sind mit $\alpha = 0{,}01$ signifikant, die Unterschiede zwischen den B-Stufen (Ernährungsgruppen) hingegen sind mit $F = 3{,}15$ bereits unter der 5% Signifikanzgrenze ($F_{0.05}$ (1/54) = 4,02).

4. 3. Die Variabilität der Sex Ratio bei künstlicher Ernährung der Wirtspflanze

Wie die Untersuchungen über den Einfluss der Wirtspflanzenart auf die Fertilität gezeigt haben, wird diese auch durch die Variabilität der Wirtspflanzen selbst beeinflusst. Eine Möglichkeit diese Variabilität zu steuern, bietet das Halten der Wirtspflanzen in Nährlösungen.

Versuch 6:

Im vorliegenden Versuch mit C-Stecklingen als Wirtspflanzen wurden folgende Variationen der Knopschen Pflanzennährlösung verwendet:

Nährlösung	Jonenkonzentration 10^{-3} Mol/l					
	NO_3'	H_2PO_4'	K^+	Ca^{++}	Mg^{++}	SO_4''
NPK	14,7	1,8	4,3	6,1	1,0	1,0
NK	14,0	—	4,0	5,0	1,0	1,0
NP	12,2	1,8	—	6,1	1,0	1,0
PK	—	1,8	1,8	2,5	1,0	3,5

Allen diesen Nährlösungen wurde $FeSO_4$ in Spuren zugesetzt.

TABELLE 10

Die Variabilität der Sex Ratio bei unterschiedlicher Ernährung der Wirtspflanze (Coleus) mit verschiedenen Nährlösungen (Versuch 6)

Die Mittelwerte und Variationsbreiten in 10 Versuchsgruppen mit n = 10

A-Stufen		B-Stufen I			B-Stufen II			Mittelwerte A-Stufen		
		Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH
NPK	$\bar{x}$	230	49	0,2018	214	76	0,3730	222,2	62,8	0,2874
	Δ	83—408	11—145	0,045—0,355	112—306	51—107	0,220—0,492			
NK	$\bar{x}$	234	46	0,1983	229	90	0,3665	231,4	67,8	0,2824
	Δ	108—394	2—135	0,005—0,356	83—408	22—202	0,202—0,509			
NP	$\bar{x}$	207	49	0,2362	182	62	0,3534	194,2	55,6	0,2948
	Δ	72—426	8—116	0,100—0,424	16—311	6—125	0,141—0,558			
PK	$\bar{x}$	258	57	0,2303	215	76	0,3721	239,0	66,9	0,3064
	Δ	163—343	18—173	0,059—0,549	54—312	21—138	0,147—0,519			
KON-TROLLE	$\bar{x}$	199	66	0,3312	246	97	0,4017	222,6	81,7	0,3664
	Δ	108—335	30—129	0,150—0,530	105—362	46—190	0,222—0,577			
Mittelwerte B-Stufen	$\bar{x}$	225,6	53,3	0,2396	217,1	80,4	0,3733			

Die durch die Nährlösung bewirkten Unterschiede zu Kontrollpflanzen waren augenfällig. Die Nährlösungspflanzen waren allgemein zarter, ihre Blätter grüner und kleiner. Die Zahl der Blätter pro Pflanze und die Wachstumsgeschwindigkeit war bei der NPK-Lösung grösser als bei der Kontrolle und nahm in der Reihenfolge NPK-NK-NP-PK ab. Die Stecklinge der PK-Lösung waren klein, blätterarm und zeigten von der Bewurzelung weg deutliches Siechtum. Die individuellen Unterschiede zwischen Pflanzen der gleichen Nährlösung waren geringer als jene zwischen den Kontrollpflanzen.

Im eigentlichen Versuch über die Variabilität der Sex Ratio bei künstlicher Ernährung der Wirtspflanze wurden jeweils drei frisch gehäutete Weibchen aus der C-Kolonie auf eine dieser Pflanzen verbracht und bis zum Eiablagebeginn laufend mit Männchen versehen. Wiederum wie bei Versuch 2 wurden nur die Nachkommenschaften der bei Eiablagebeginn grössten Weibchen ausgezählt. Die Ergebnisse der ersten Versuchsserie (März, April) machten eine Wiederholung (Juni, Juli) notwendig, so dass sich schliesslich die aus Tabelle 10 zu entnehmende Versuchsanlage ergab.

Die Auswertung mit der doppelten Varianzanalyse und anschliessendem Homogenitätstest gibt bezüglich der rMH keine Signifikanz für Wechselwirkung und A-Stufen. Die B-Stufen (Wiederholungen) sind wiederum wie bei Versuch 5 bei $\alpha = 0{,}01$ hoch signifikant verschieden.

Die Fertilitätsunterschiede sind nicht signifikant, so dass die Fertilität beeinflussende Nahrungsunterschiede ausgeschlossen werden können. Der Unterschied der rMH zwischen Versuchsgruppen mit künstlicher Ernährung der Wirtspflanzen und der Kontrolle (beachte besonders 1. Versuchsreihe) erweist sich in der statistischen Überprüfung als nicht signifikant. Der rMH-Unterschied zwischen den Wiederholungen dagegen ist wie bei Versuch 5 signifikant ($\alpha = 0{,}01$).

4. 4. Die Ergebnisse der ökologischen Untersuchungen über die Variabilität der Sex Ratio

Vor jedem Versuch, die im Zusammenhang mit verschiedenen Versuchanordnungen festgestellten signifikanten rMH-Unterschiede zu interpretieren, ist zu überprüfen, ob die ebenfalls durch die Versuchsanordnungen verursachten Fertilitätsunterschiede einen Einfluss auf die Sex Ratio ausüben. Eine Möglichkeit dazu bietet das Bestimmen der Korrelationskoeffizienten zwischen Nt und rMH in den einzelnen Behandlungsgruppen. Im Vergleich dieser Korrelationskoeffizienten mit dem hypothetischen Wert $r = 0$

wird mit $\chi^2 = 23{,}55$ die Signifikanzschranke nicht überschritten. ($\chi^2_{0,05}(25) = 37{,}65$), dh. man darf annehmen, dass in den 25 Gruppen die Korrelationskoeffizienten nur zufällig von 0 verschieden sind. Es ist somit statistisch kein Einfluss der Fertilität auf die Sex Ratio festzustellen.

Die Untersuchungsergebnisse:

1. Versuch 4 über den Einfluss der Begattungsbedingungen auf die rMH zeigt signifikante Unterschiede, und zwar niedrige rMH bei einer Begattung sofort oder 30 Tage nach der Häutung und hohe rMH bei einer Begattung 8 bzw. 50 Tage nach der Häutung zum Adultweibchen. Die Unterschiede zwischen Versuch 2 *a* einerseits und den Versuchen 1 *a* und 5 andrerseits können auf entsprechende Begattungsunterschiede zurückgeführt werden.
2. Der Vergleich der Wirtspflanzen K und C ergibt zweimal auf C eine höhere rMH als auf K. Der Unterschied ist in Versuch 1 *a* signifikant, nicht aber in Versuch 5. In Versuch 2 *a* sind die rMH auf beiden Wirtspflanzen annähernd gleich und extrem niedrig.
3. In Versuch 6 ist, unabhängig von der Zusammensetzung der Nährlösung, die rMH auf Nährlösungspflanzen etwas, statistisch jedoch nicht signifikant, niedriger als auf in Humus wurzelnden Kontrollpflanzen. Die allgemein niedrige rMH in diesem Versuch stimmt mit den Begattungsbedingungen überein.
4. Die Wiederholungen einzelner Versuchsgruppen (Versuche 5 und 6) zu verschiedenen Zeiten erbrachten statistisch signifikante Unterschiede der rMH in Funktion der Zeit, und zwar so, dass auf Grund der während zwei aufeinanderfolgenden Jahren gemachten Versuche nicht die Jahresperiodizität von Licht und Klima dafür verantwortlich gemacht werden kann.
5. Der rMH-Erwartungswert des Genotyps der Population kann durch das Gesamtmittel aller 303 Nachkommenschaften nicht abgeschätzt werden, da diese keine repräsentative Stichprobe für die Wirkung aller möglichen Umwelteinflüsse gemäss deren Beobachtungswahrscheinlichkeiten darstellen. Es ist jedoch auf Grund der Ergebnisse der verschiedenen Versuche anzunehmen, dass dieser Erwartungswert unter 0,5 liegt.

6. Die Reaktionsbreite der rMH, markiert durch die beobachteten Extremwerte in den Nachkommenschaften einzelner Weibchen, umfasst den Bereich 0,005—0,881. Im Vergleich dazu schwanken die Beobachtungswerte von James zwischen 0,447 und 0,981 und jene von Nelson-Rees zwischen rund 0,2 und 0,9.

Die Schlussfolgerungen:

Der teilweise signifikante Einfluss auf die Sex Ratio der hier und anderwärts geprüften Faktoren, Temperatur, Luftfeuchtigkeit,

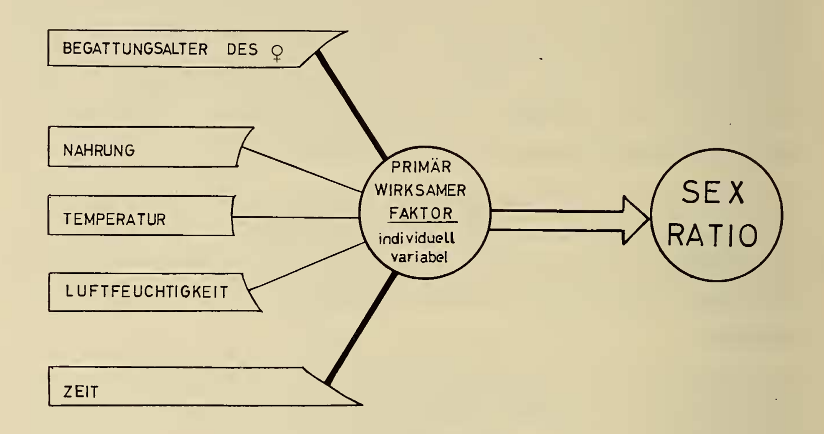


Abb. 2.
Der Einfluss der Umweltfaktoren auf die Sex Ratio.

Nahrung und Begattungsalter ist sekundärer Natur und berührt die individuelle, über das Mass des Zufälligen hinausgehende Variabilität der rMH einzelner Nachkommenschaften kaum. Das Gleiche gilt für den Einfluss der zwischen zwei Versuchswiederholungen verstrichenen Zeit. Um die grosse Variabilität von unter identischen Bedingungen sich fortpflanzenden Weibchen zu erklären, postulieren wir einen primär wirksamen Faktor oder Faktorenkomplex, der spätestens bei Eiablagebeginn die rMH in der Nachkommenschaft eines Weibchens bestimmt, individuell sehr variabel und von den oben erwähnten Faktoren, besonders von Begattungsalter und „Zeit“, abhängig ist. Eine Vorstellung von der Wirkweise und Abhängigkeit dieses Faktors oder Faktorenkomplexes soll das Schema auf Abbildung 2 vermitteln.

Obwohl die Existenz eines solchen Faktors im Einklang mit allen Ergebnissen bisheriger ökologischer Untersuchungen steht, sind konkrete Anhaltspunkte für seine Wirkweise spärlich. Zu solchen zählen wir seine starke Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Begattung und die im Zusammenhang mit dem Begattungsalter zu beobachtende Variabilität des Anteils männlicher Embryonen an der täglich abgelegten Eirate eines Weibchens. Auch die Variabilität der Sex Ratio, in Abhängigkeit der Zeit, ist in dieser Hinsicht bemerkenswert. Bei den anschliessenden cytologischen und histologischen Untersuchungen wird deshalb ein besonderes Augenmerk auf den Ablauf der Reifeperiode des Weibchens und die Folgen einer Begattung vor, während und nach dieser Periode zu halten sein. Angesichts der Evolution einiger Lecanoidenarten zu fakultativ und obligat parthenogenetischen Rassen und dem Auftreten unisexuell weiblicher Nachkommenschaften bei bisexuellen Arten im Tribus der Pseudococcini (JAMES) ist auch die Möglichkeit gynogenetischer Entwicklung (vgl. NUR und CHANDRA 1963) eines variablen Teils der Eier zu überprüfen.

5. HISTOLOGISCHE UND CYTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

Für diese Untersuchungen wurden Schnittpräparate von Männchen und Weibchen aller Altersstufen gemacht. Als Fixationsmittel dienten Bouin-Duboscq oder Carnoy. Gefärbt wurde mit Delafield-Erythrosin, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, Feulgen-Lichtgrün und Feulgen-Heidenhain. Einige Beobachtungen über die Entstehung der Spermienbündel wurden an Quetsch - und Lebendpräparaten mit Phasenkontrast gemacht. Die aus diesen Untersuchungen resultierenden Beobachtungen decken sich grösstenteils mit jenen von SCHRADER, HUGHES-SCHRADER und NUR (1962). Im Folgenden wird deshalb nur auf einzelne bis jetzt wenig beachtete Aspekte und einige Abweichungen eingegangen werden.

5. 1. DIE HISTOGENESE DER GESCHLECHTSORGANE IM VERLAUF DER POSTEMBRYONALENTWICKLUNG

Die Entwicklungsvorgänge, die zum extremen Sexualdimorphismus führen, sind bis heute einzig in ihrem äusseren Ablauf bekannt, weshalb die aus den Untersuchungen über Spermatogenese

und Oogenese resultierenden Einblicke in die Postembryonalentwicklung nicht übergangen werden sollen.

Im Erstlarvenstadium sind die Geschlechter nur auf Grund der besonderen Kernstruktur der Männchen zu unterscheiden, die je nach Art und Gewebe verschieden deutlich ist und sich nie auf die polyploiden Kerne der Mycetocyten erstreckt. (Schrader 1921, 1923). Unsere eigenen Untersuchungen an feulgengefärbten Präparaten zeigen, dass bei *Pl. citri* nicht alle Gewebe der Männchen die männchentypische Kernstruktur aufweisen. Diese ist in der Epidermis und allen epidermalen Bildungen, in Zentralnervensystem, in Ösophag und Enddarm, in der larvalen Muskulatur und in den Genitalleisten vorhanden, fehlt jedoch den wahrscheinlich polyploiden Kernen des Mitteldarmes und der Malpighigefässe, der Muskulatur der Imago (Thoraxmuskulatur) und im Fettgewebe. In der Filterkammer, entsprechend ihrem Aufbau aus Ösophag, Mittel-und Enddarm sind beide Kernarten festzustellen. Unter den Önocyten wurden solche mit normalen, und solche mit Männchenkernen gefunden. Anatomisch stimmen Männchen und Weibchen in Bezug auf Lage und Ausdehnung der Genitalleisten anfänglich überein. Erst die Ausdifferenzierung der Genitalstränge bringt geschlechtliche Unterschiede mit sich. Während diese beim Männchen nur in caudaler Richtung auswachsen, strecken sie sich beim Weibchen eingesenkt in die Genitalleisten auch in cranialer Richtung. Die Genitalleiste selbst bleibt in dieser Zeit ein unstrukturierter Verband sich rege mitotisch teilender Zellen.

Noch zu Beginn des Zweitlarvenstadiums unterscheiden sich die Geschlechter äusserlich nicht; ihre Differenzierung schreitet aber rasch voran und ist bereits vor der zweiten Häutung auch äusserlich sichtbar. Die Larven behalten ihre Larvengestalt, vom Grössenwachstum abgesehen, bei. Die Verbindung der vom 8. Abdominalsegment heranwachsenden epidermalen Vaginaanlage mit den beiden noch massiven Genitalsträngen kommt gegen Ende dieses Stadiums nahe der Ovarien zustande. Die Umwandlungen in der männlichen Zweitlarve sind einschneidender und zeichnen sich auch äusserlich ab. Die paarigen Hoden, je aus einem Follikel bestehend, wachsen vergleichsweise stärker heran als die Ovarien und bereits mitte Zweitlarvenstadium setzen gleichzeitig für alle Spermatogonien die Reifeteilungen ein. Die Genitalstränge erstrecken sich weiter caudalwärts als beim Weibchen. Sie verwachsen ebenfalls

gegen Ende des Stadiums mit der im Vergleich zur Vaginaanlage kleinen Anlage des männlichen Begattungsapparates im neunten Abdominalsegment. In der Mitte zwischen Geschlechtsöffnung und Hoden sind bereits die zukünftigen Samenblasen als Verdickungen der Genitalstränge zu erkennen. Gleichzeitig treten auch die Flügelanlagen hervor. Da die männliche Zweitlarve im Gegensatz zur weiblichen keine Stechborstenanlagen mehr besitzt, ist die zweite Häutung mit dem endgültigen Verlust der Stechborsten verbunden.

Das Drittlarvenstadium der Weibchen ist wie das Zweitlarvenstadium lediglich mit einem die Proportionen etwas verschiebenden Grössenwachstum verbunden. Das Lumen der Geschlechtswege öffnet sich von der Vaginamündung gegen die Ovarien fortschreitend, während in deren caudalem Bereich die ersten Ansätze zur Ausdifferenzierung von Ovariolen festzustellen sind. Die Vagina selbst ist durch die Larvencuticula nach aussen noch verschlossen und die drei accessorischen Drüsen und das Receptaculum seminis sind vorerst nur massive der Vaginawand aufsitzende Anlagen. In der männlichen Drittlarve setzt im Anschluss an den Stechborstenverlust eine langsame Autolyse des gesamten Ernährungssystems inklusive Mycetom ein, die jedoch nie zum vollständigen Verschwinden dieser Organe führt. Gleichzeitig werden die imaginalen Ocellen, nach Pflugfelder (1936) unicorneale Facettenaugen und die entsprechenden Lobi optici angelegt, die jetzt als Körperanhänge äusserlich sichtbaren Flügelanlagen vergrössert und die Umgestaltung des Thorax und der Thoraxmuskulatur eingeleitet. Die Samenblasen wachsen stark heran, sind aber wie die Spermidukte noch immer massiv. Die Hoden, deren Grössenwachstum bereits mitte Zweitlarvenstadium abgeschlossen ist, durchlaufen während der jetzt einsetzenden Spermiogenese erhebliche Gestaltumwandlungen.

Nach der dritten Häutung ist das Weibchen adult. Äusserlich ist es hauptsächlich dank der Grösse, etwas veränderter Proportionen und einer Zahl von acht Antennengliedern von den Larvenstadien zu unterscheiden. Während das Gewicht der Weibchen zwischen den Larvenhäutungen jeweilen um das drei- bis fünffache anwächst, steigt das Gewicht im Zeitraum zwischen letzter Häutung und Eiablagebeginn um das zehn-bis dreissigfache. Dieses enorme Wachstum ist allein auf die erst jetzt in grossem Ausmass einset-

zende Histogenese der Ovariolen zurückzuführen. Auch die Ovidukte treten erst in diesem Zeitpunkt in ihre letzte Entwicklungsphase. Nach der letzten Häutung sind kaum individuelle

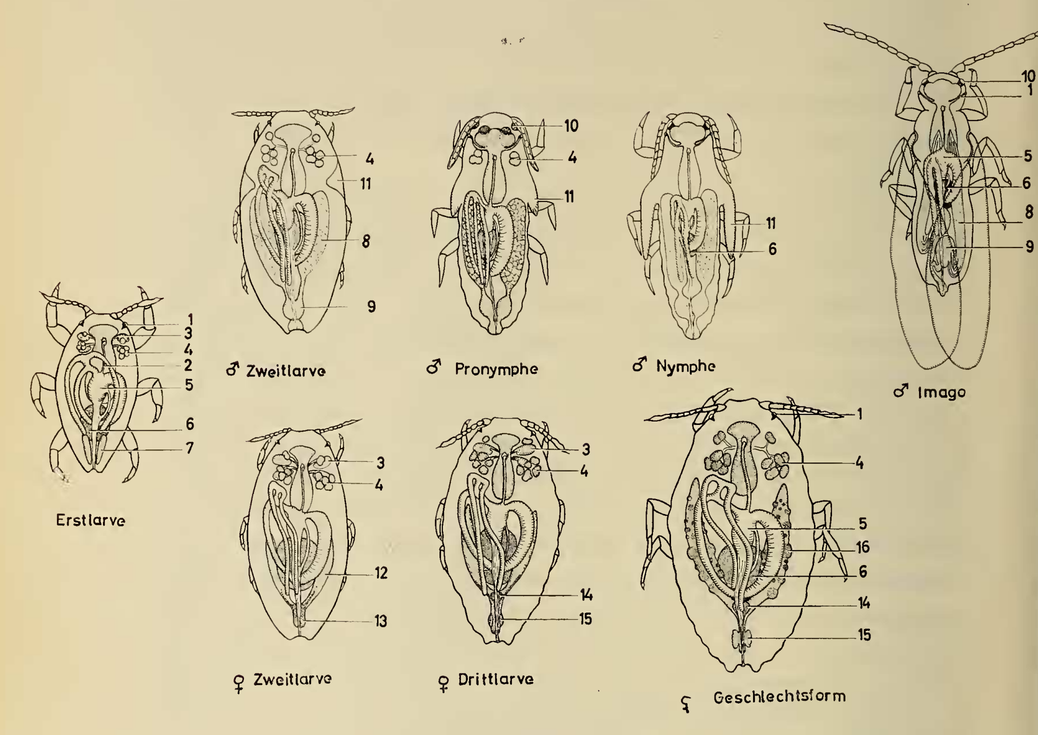


Abb. 3.

Die Postembryonalentwicklung von *Pl. citri*.

1. Larvale Ocellen
2. Zentralnervensystem
3. Stechborstenanlagen
4. Speicheldrüsen
5. Darmsystem
6. Mycetom
7. Gonaden
8. Hoden
9. Samenblasen
10. Imaginale Ocellen
11. Flügelanlagen
12. Ovarien
13. Vagina
14. Receptaculum seminis
15. Acessorische Drüsen
16. Junge Ovariolen im frisch gehäuteten Weibchen.

Erstlarve ca. 50 ×, alle andern Stadien ca. 35 × vergrössert.

Unterschiede in der Reife der Ovarien festzustellen, weshalb angesichts der grossen zeitlichen Variabilität der Entwicklung bei unseren Untersuchungen über den Einfluss des Begattungsalters nicht der Augenblick der Eiablage sondern jener der Häutung zur weiblichen Imago als Bezugsmoment gewählt wurde.

Im Viertlarvenstadium des Männchens, dem Nymphenstadium, treten die Flügelanlagen noch stärker hervor und die Thoraxmus-

kulatur wird vollendet. Ebenso werden die imaginalen Ocellen fertig ausgebildet und treten in Kontakt mit den Lobi optici. Die Hoden dehnen sich stark in die Länge, während in der Mitte für kurze Zeit eine bauchige Verdickung zurückbleibt. Das Lumen der Spermidukte öffnet sich und die Samenblasen erhalten nach Auflösung der inneren Zellen eine schwammige, blasige Struktur. Nach der vierten und letzten Häutung verbleibt das adulte Männchen noch 2—4 Tage in seiner Flaumhülle, während Flügel- und Thoraxmuskulatur, Antennen und Augen, Geschlechtsorgane und Geschlechtsprodukte die zur Begattung nötige Funktionsfähigkeit erlangen.

5. 2. Die Spermatogenese

Der Verlauf der Reifeteilungen und der Beginn der Spermiogenese ist von Schrader erstmals beschrieben und von Hughes-Schrader in der heute geltenden Art interpretiert worden. Klarheit über den komplizierten Verlauf der Spermiogenese und die Vereinigung der Spermien in speziellen, oft für Spermien angesehenen Spermienbündeln brachten aber erst die Untersuchungen von Nur (1962) an *Ps. obscurus*. Unsere entsprechenden Untersuchungen an *Pl. citri*, noch in Unkenntnis der Arbeit von Nur begonnen, zeigen die gleichen Ergebnisse, weshalb im Folgenden nur einige ergänzende Einzelheiten angeführt seien.

Die Spermiogenese erstreckt sich über Pronymphen- und Nymphenstadium und wird erst in der auf die Häutung zur Imago folgenden mehrtägigen Ruhephase abgeschlossen. Sie verläuft parallel in allen Spermatocysten, aber nicht streng synchron mit der Postembryonalentwicklung. In jeder der 16 Vierkern-spermatiden einer Cyste sind zwei Kerne feulgennegativ und zeigen auch mit andern Kernfarbstoffen (Eisenhämatoxylin n. Heidenhain, Carminessigsäure n. Schneider) nur schwache Farbreaktionen. Die beiden andern, aus den heterochromatischen Chromosomen gebildeten Kerne sind stark kondensiert und feulgenpositiv. Die nur von den feulgennegativen Kernen ausgebildeten 32 Spermienfäden einer Cyste legen sich von innen an die Cystenwand und folgen ihr in mehreren Umgängen, die alle in einem äquatoriellen Gürtel zusammenlaufen. Meist gleichzeitig mit dem Übergang von Pronymphe zu Nymphe strecken sich die nebeneinander liegenden

Windungen der Spermienfäden aus und dehnen die Cyste in der Längsrichtung des Hodenfollikels. Zugleich oder schon vorher geht der Zusammenhang der Spermienfäden mit den Spermatidenresten und den darin zurückbleibenden, noch immer feulgenpositiven Kernen verloren. Diese bilden zusammen mit der Cystenwandung die dicke mit Kernen und Chromatinbrocken durchsetzte Scheide des wellenförmig gekrümmten Spermienbündels. Sobald die Cysten sich annähernd auf Hodenfollikellänge ausgestreckt haben, bahnt sich von den zentral angeordneten Spermienfäden ausgehend eine Längsteilung der Cysten an. Anschliessend wächst der Hodenfollikel selbst etwas in die Länge und die an seinen beiden Enden aufsitzenden Zellhaufen entwickeln sich zu haubenartigen, drüsigen Verlängerungen des Follikels. Die halbierten Spermienbündel verschieben sich nach den beiden Follikelenden und die nun über die Spermien in beiden Richtungen hinausragenden Bündelscheiden formen sich in den Follikelhauben zu den typischen Spiralköpfen. In der Mitte bleibt der Hodenfollikel noch bis ins Imaginalstadium hinein bauchig verdickt. Hier liegen die Enden der Spermienbündel und verkümmern einzelne aus dem Cystenverband ausgestossene Spermatiden, oder ganze auf früheren Stufen stehengebliebene Cysten. Nach Abschluss der Ruheperiode der jungen Imago sind die beiden Hodenfollikel ca. 600 μ lange und 30 μ dicke, an beiden Enden spitz zulaufende, dicht mit Spermienbündeln gepackte Schläuche. Die genaue Struktur der Spermienbündel ist jetzt am besten an carminessigsäuregefärbten Präparaten zu erkennen. Der Spiralkopf ist ca. 70 μ lang und bis auf wenige kleine Chromatinbröcklein ungefärbt. Im ca. 230 μ langen Mittelstück liegen eng verzwirnt die 16 Spermienfäden, welche mit Carminessigsäure gut angefärbt sind. Im ca. 50 μ langen, wiederum ungefärbten Endstück liegen viele feine Chromatinbröcklein und einige grössere Chromatinschollen, die wohl die Überreste der zurückgebliebenen Spermatidenkerne oder der Cystenwandkerne darstellen. Die Zahl dieser Chromatinschollen ist von Bündel zu Bündel verschieden. Aus dem Spermienbündel künstlich befreite Spermien sind in einem Viertel (Vorderende?) gestreckt und im übrigen Teil leicht gewellt. Eine andere Gliederung in der Längsachse ist nicht festzustellen, und bei im Ovidukt aus dem Spermienbündel befreiten Spermien kann nicht einmal diese beobachtet werden. Sowohl die Spermienbündel als auch die Spermien zeigen

in Ringerlösung schlängelnde und drehende Eigenbewegung. Versuche, einzelne Spermienbündel und Spermienfäden mit Feulgen zu färben, verliefen negativ; auch die grossen Chromatinschollen im Spermienbündelende sind jetzt feulgennegativ.

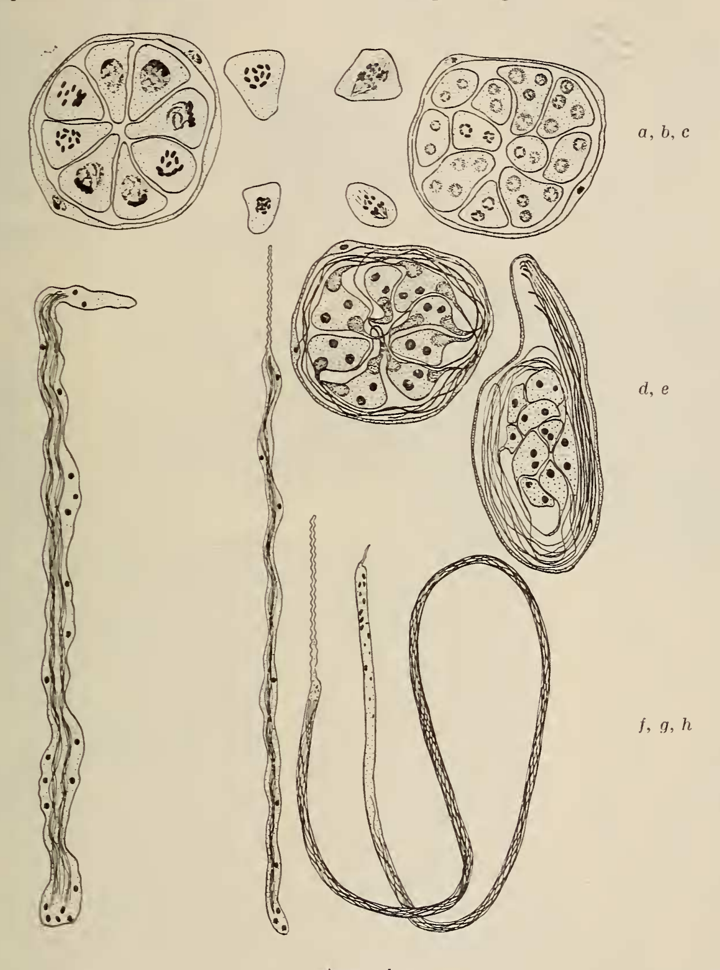


Abb. 4.

Die Spermatogenese.

a)	Zweitlarve:	Spermatocyste mit Spermatocyten I.
b)	,, :	Oben Äquationsteilung, unten Reduktionsteilung.
c)	,, spät:	Verschmelzen der 32 Zweikern- zu 16 Vierkern-Spermatiden.
d)	,, ,,	Auswachsen von zwei Spermien pro Vierkern-Spermatide.
e)	Pronymphe:	Längsdehnung der Cyste.
f)	Nymphe:	Cyste gestreckt, vor Längsteilung.
g)	,,	Spermienbündel mit 16 Spermien.
h)	Imago:	Begattungsbereites Spermienbündel.

a)-c) ca. 2500 ×, *f)-h)* ca. 900 × vergrössert.

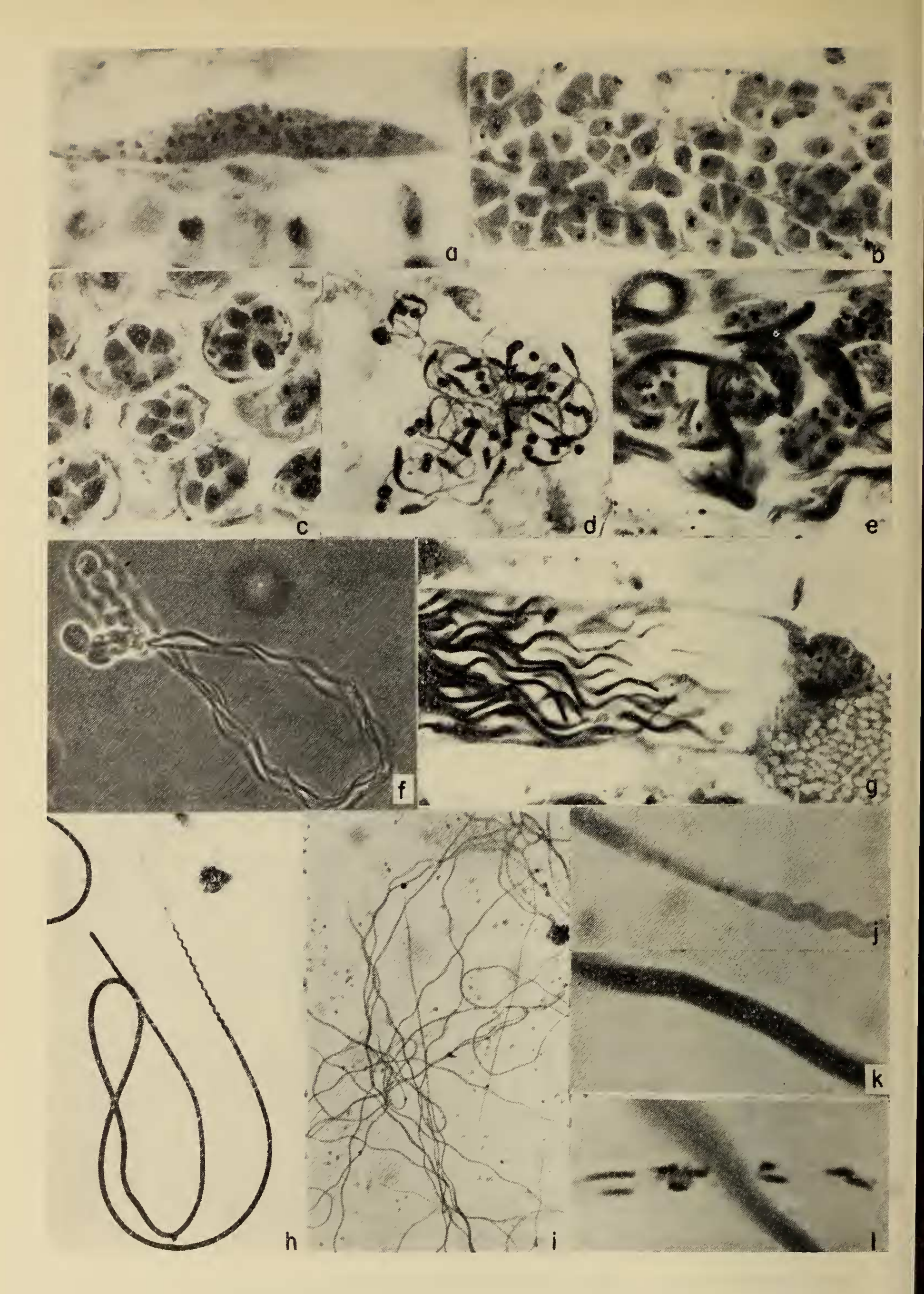


Abb. 5.

Die Spermatogenese.

a) Erstlarve: Hoden.
b) Zweitlarve: Reifeteilungen der Spermatocyten in den Spermatocysten.
c) ,, spät: Auwachsen der Spermien aus Vierkern-Spermatiden.
d) ,, ,, Auswachsen der Spermien aus Vierkern-Spermatiden (Quetschpräp.).
e) Pronymphe: Längsdehnung der Cysten.
f) Nymphe: Cyste vor Längsteilung (Vitalpräparat, Phasenkontrast).
g) ,, Hodenfollikel, rechts: Follikelhaube vor Auswachsen und Samenblase.
h) Imago: Begattungsreifes Spermienbündel.
i) ,, Spermien.
j) ,, Übergang Spiralkopf-Mittelstück.
k) ,, Mittelstück.
l) ,, Endstück.

a)-e), g) ca. 600 ×, *f), h), i)* ca. 300 × und *j)-l)* ca. 1200 × vergrössert.

5. 3. Die Histogenese der Ovariolen und die Oogenese

Das erste als solches erkennbare Entwicklungsstadium einer Ovariole sieht einer jungen Spermatocyste ähnlich und tritt erstmals in wenigen Exemplaren Ende Drittlarvenstadium auf. Erst nach der Häutung zur Imago setzt die Histogenese der Ovariolen richtig ein und erreicht in raschem (wirtspflanzenabhängig) Anstieg ein erstes Maximum, das, sofern die Begattung im gleichen Zeitraum erfolgt, für 4—8 Tage beibehalten wird. Bei Ausbleiben der Begattung in dieser ersten Periode erfolgt 15—25 Tage später, zugleich mit der Degeneration der ersten Ovariolen und Eiserie, ein weiteres Maximum. Bei Eiablagebeginn ist in der Regel das undifferenzierte Keim- und Hilfsgewebe entlang der Ovidukte aufgebraucht. Von den 6-8 Oogonien einer „Oocyste" entwickeln sich 5—7 zu Nährzellen und eine zur Oocyte I, während die Hüllzellen der „Oocyste" das Ei und Nährkammer umhüllende Follikelepithel und den Ovariolenstiel bilden. Anfänglich sind alle Oogonienkerne einer Oocyste feulgenpositiv und zeigen ein gleichmässiges Wachstum. Sobald sich die Oocyte von den Nährzellen absondert, reagiert ihr Kern feulgennegativ und verliert auch sonst seine gute Färbbarkeit. Bei Abschluss der Wachstumsphase, gekennzeichnet durch Degeneration der Nährkammer und Eindringen der Symbiontenballen liegt der Kern blasig aufgetrieben am Rand der Eizelle ungefähr in der Mitte zwischen Nährkammer und Ovariolenstiel. In diesem Zeitraum, nicht streng koordiniert mit dem Eindringen der Symbionten, fällt die erste sichtbare Phase der Reifeteilungen. Sie zeigt die Chromosomen bereits in zwei Chromatiden gespalten in einer End- zu Endassoziierung. Kreuzförmige Tetraden wurden im Gegensatz zu Schrader keine beobachtet. Der Verlauf der Reifeteilungen ist in Abb. 7. dargestellt. Bei unbegatteten Weibchen verbleibt der Oocytenkern bis zur Begattung oder der Degeneration der Eizelle in der Pro- oder Metaphase. Erst nach der Begattung, aber unabhängig von der Besamung beginnt die Anaphase I. So wurden bei fünf unbegatteten Weibchen neben 12 Pro- und 17 Metaphasen keine Anaphasen und bei 20 begatteten Weibchen neben 44 Pro- und 17 Metaphasen auch 12 Anaphasen I beobachtet. Nur in einem einzigen Fall konnte eine Anaphase II mit einer der Anaphase I vergleichbaren Spindelfigur festgestellt werden, während in den andern Fällen

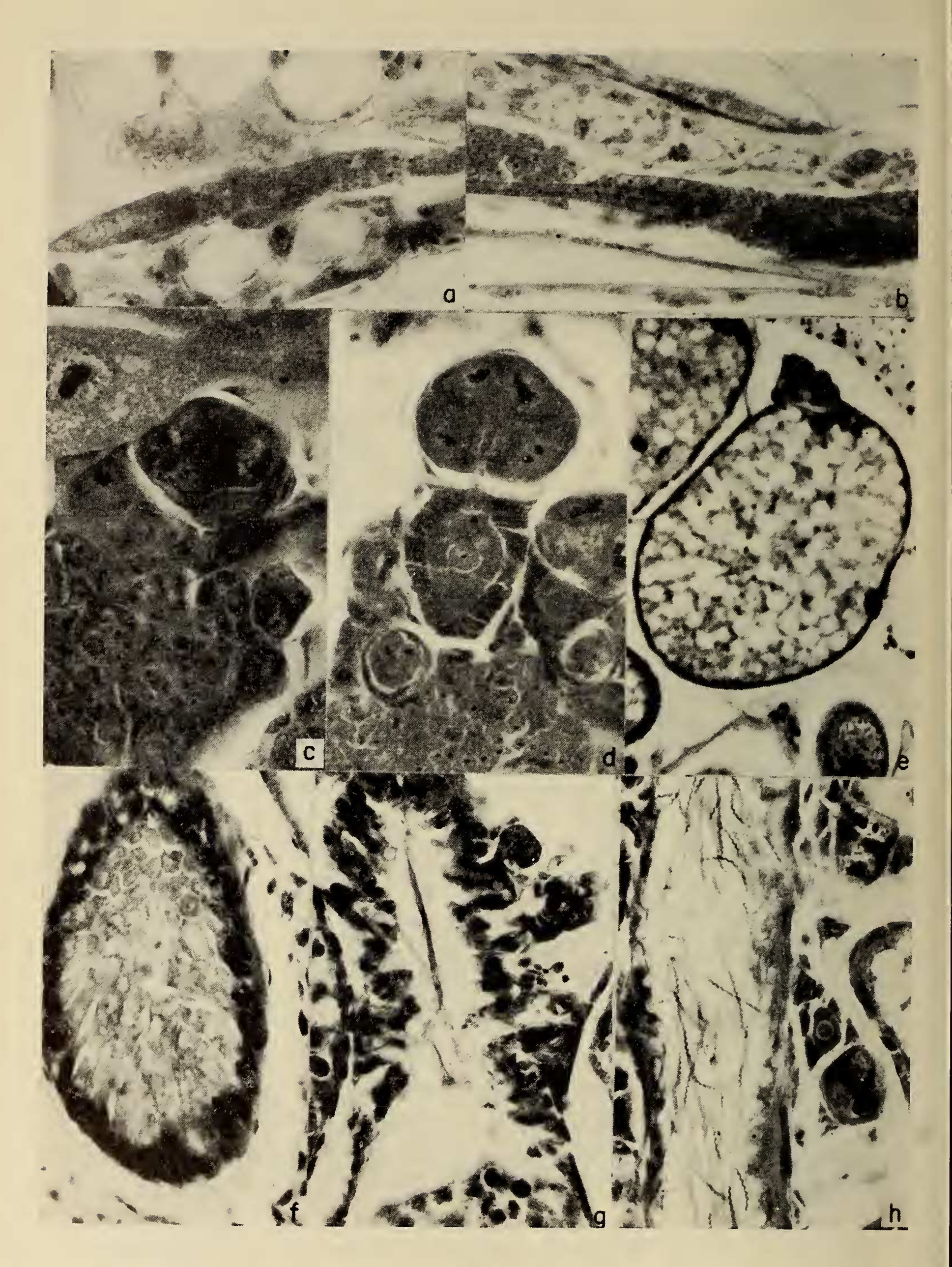


Abb. 6.

Histogenese der Ovariolen und Ovidukte.

a)	Erstlarve:	Ovarium.
b)	Zweitlarve spät:	Ovarium, Genitalstrang, Vaginaanlage.
c-d)	Adultweibchen:	Junge Ovariolen und Keimgewebe.
e)	,,	Oocyte I, oben Nährkammer degenerierend, Symbiontenballen eindringend, rechts Oocytenkern.
f)	,,	Uterus mit sekretbeladenen Epithelzellen.
g)	,,	Ovidukt mit aufgelöstem Spermienbündel.
h)	,,	Ovidukt mit Spiralköpfen und Spermien.

a)-d) ca. 600 ×, *e)* ca. 200 ×, *f)-h)* ca. 250 × vergrössert.

das Auseinanderweichen der Chromosomen in lockerem ungeordnetem Verband vor sich zu gehen scheint. Die Teilungsbilder gleichen den von SCHRADER und THOMSEN wieder-gegebenen. Ebenfalls nur einmal wurde ein Anaphasebeginn des Polkernes I beobachtet, nie aber eine Teilung. Beide Polkerne liegen nach Abschluss der Reifeteilungen in einem gemeinsamen, sich vom Periplasma unterscheidenden Plasmabezirk an der Peripherie des Eies. Während die fünf Chromosomen im Polkern II sich sofort nach der Teilung auflösen, bleiben die zehn Chromosomen des Polkerns I über die Befruchtung und die erste Furchungsteilung hinaus kondensiert.

5. 4. BEGATTUNG, BESAMUNG, BEFRUCHTUNG UND ERSTE FURCHUNGSTEILUNGEN

Die Geschlechtswege durchlaufen nach der letzten Häutung des Weibchens noch verschiedene Entwicklungsstadien, die für das Schicksal der Spermienbündel, die Oogenese und die Besamung von Bedeutung zu sein scheinen. Unmittelbar nach der Häutung ist nur die Vagina bis zur Vereinigung mit den beiden Ovidukten geöffnet, indess die Ovidukte selbst noch als massive Stränge die Ovarien durchziehen, in welchen in zunehmendem Masse die Ovariolen ausdifferenzieren. Findet die Begattung schon in diesem Zeitpunkt statt, so werden die Spermien zunächst in der im Folgenden stets Uterus genannten Vereinigungsstelle der beiden Ovidukte mit der Vagina zurückgehalten. Sobald das Receptaculum seminis aufnahmebereit ist, wird ein Teil der Spermienbündel auch dort aufgenommen. 2—3 Tage nach der Häutung treten Uterus und Ovidukte in ihre letzte Entwicklungsphase vor der Eiablage. Ihre Epithelzellen nehmen drüsigen Charakter an und erfüllen mit den rasch heranwachsenden sekretspeichernden Zellkuppen das ganze Lumen, so noch immer den Eintritt der Spermienbündel in die Ovidukte behindernd. Zugleich mit dem Zerfall der sekretbeladenen Zellkuppen dringen die Spermienbündel dann in variabler Zahl in die Ovidukte vor, wo sie im Gegensatz zu den Spermienbündeln von *Ps. obscurus* (NUR) mit Ausnahme der Spiralköpfe gänzlich aufgelöst werden. Frühestens sechs Tage nach der Häutung sind zusammen mit den ersten freien Spermienfäden in den Ovidukten die ersten Anaphasen I

in den Oocyten zu beobachten. Die Histogenese der Geschlechtswege ist wie jene der Ovariolen nach der Häutung zeitlich von der Wirtspflanzenart bzw. der Ernährung abhängig. Werden die Weibchen nicht begattet, so wird die drüsige Struktur des Uterus-Epithels selbst bei extremem Überaltern beibehalten. Hat schliesslich doch eine Begattung stattgefunden, so stauen sich auch jetzt die Spermienbündel vorerst am Eingang in die Ovidukte. Die ersten Anaphasen sind schon vor Auflösung der Spermienbündel zu beobachten und die Eiablage beginnt bereits zwei Tage nach der Begattung, bevor alle Epithelzellen im Uterus ihre Sekrete ausgestossen haben. Die abgelegten Embryonen stehen in diesem Falle, wie bereits früher festgestellt worden ist, noch ganz am Anfang ihrer Entwicklung. Gegen Ende der Eiablage sind in allen Abschnitten der Ovidukte reichlich Spiralköpfe, jedoch nur wenig Spermien und keine intakten Spermienbündel mehr zu finden, während das Receptaculum seminis meist noch von zusammen verklebten Spermienbündeln erfüllt ist.

Das Eindringen eines Spermienfadens in die Eizelle konnte nicht beobachtet werden, obschon in den Ovariolenstielen sehr häufig Spermienfäden zu sehen sind. Das Chorion wird während der Prophase I vom Follikelepithel sezerniert und zeigt bereits zu Beginn der Anaphase I seine endgültige Struktur. Bei in Prophase I überalterten Eiern behält das Chorion die für die Sekretionsphase typische Struktur bei. Eine Mikropyle wurde nicht festgestellt. Auf Grund der Lage und des zeitlichen Auftretens von Spermien im Ei sind zwei verschiedene Formen der Besamung denkbar. Im einen Falle liegt das Spermium als verkürzter und etwas verdickter Faden bereits vor Abschluss der Reifeteilungen inmitten eines Plasmahofes im Eiinnern (bei 8 kurz vor oder bei Eiablagebeginn fixierten Weibchen 11 mal beobachtet). Am untern Ende des Eies, dem Ansatz des Ovariolenstiels gegenüber, ist das Periplasma anfänglich etwas verdickt und es wäre in diesem Falle möglich, dass das Spermium hier durch das in Bildung begriffene Chorion eingedrungen und von diesem Plasma umgeben gegen die Eimitte vorgerückt ist. Im zweiten Falle (eine Beobachtung) liegt bereits während der zweiten Reifeteilung ein Spermium in Windungen verschlungen im Plasmabezirk des Polkerns I, weshalb es auch möglich wäre, dass der Polkernbezirk die Einlasspforte für die Spermien bildet.

Nach Abschluss der Reifeteilungen bewegt sich der weibliche Vorkern in Richtung Eizentrum, wo sich das Spermium inwischen zum männlichen Vorkern umgewandelt hat. Die Kontaktaufnahme und Verschmelzung der beiden Vorkerne ist recht häufig zu sehen. ohne dass dabei auch nur eine Andeutung eines Spermasters gefunden wird. Zu Beginn ihrer Kontaktaufnahme haben beide das Aussehen von aufgeblasenen Interphasekernen. Mit der Auflösung der Kernmembran an der Kontaktstelle kondensieren sich die Chromosomen vorerst zu langen, gut gefärbten (Eisenhämatoxylin nach Heidenhain) Fäden. Verkürzung der Chromosomen und völliger Abbau der Kernmembranen führen schliesslich zur Vereinigung der beiden Chromosomensätze in der Metaphasenplatte der ersten Furchungsteilung. Centrosomen wurden weder während der Reifeteilungen noch der Befruchtung beobachtet. sind aber bei Spindeln späterer Furchungsteilungen wieder eindeutig vorhanden.

In Zusammenhang mit Besamung und Befruchtung ist ein weiteres Phänomen besonders erwähnenswert. Während im Eiinnern entweder zwei Kerne in Annäherung. die Befruchtung oder gar die ersten Furchungsteilungen zu sehen sind. kann in der Polkernregion ein weiterer, selten sogar ein zweiter Spermienfaden festgestellt werden. der sich ihr in Windungen einfügt. (Bei 7 kurz vor oder bei Eiablagebeginn fixierten Weibchen 20 mal beobachtet.) In keinem Falle wurden Spermienfäden im Eizentrum und in der Polkernregion gleichzeitig beobachtet. Um die Bedeutung der Polkernbesamung abzuklären, wurde die Entwicklung der Zygote etwas weiter verfolgt. Die ersten Furchungsteilungen erfolgen für alle Kerne synchron in normalem Rhythmus von Interphase und Mitose. Im Vierkernstadium sind auch die zehn Chromosomen des Polkerns I aufgelöst und beide Polkerne im Begriff miteinander zu verschmelzen. Leider fehlen Beobachtungen von der Umwandlung des Spermiums in der Polkernregion in der Zwischenzeit, und in diesem Stadium konnten keine Unterschiede zwischen den Polkernen verschiedener Eier festgestellt werden, die auf „Befruchtung" der einen schliessen liessen. Während der Interphase der Furchungskerne im Achtkernstadium durchläuft der Polkern seine erste Mitose, die selten beobachtet wurde. In keinem der Fälle war es möglich die Chromosomenzahl exakt zu bestimmen. Während der Interphase der Furchungskerne im 16-Kernstadium

durchlaufen die beiden Polkernderivate ihre zweite Mitose. Auch hier war die Chromosomenzahl nicht genau zu bestimmen.

Bei Feulgenfärbung sind männliche und weibliche Embryonen frühestens zu Beginn der Differenzierung des Blastoderms in

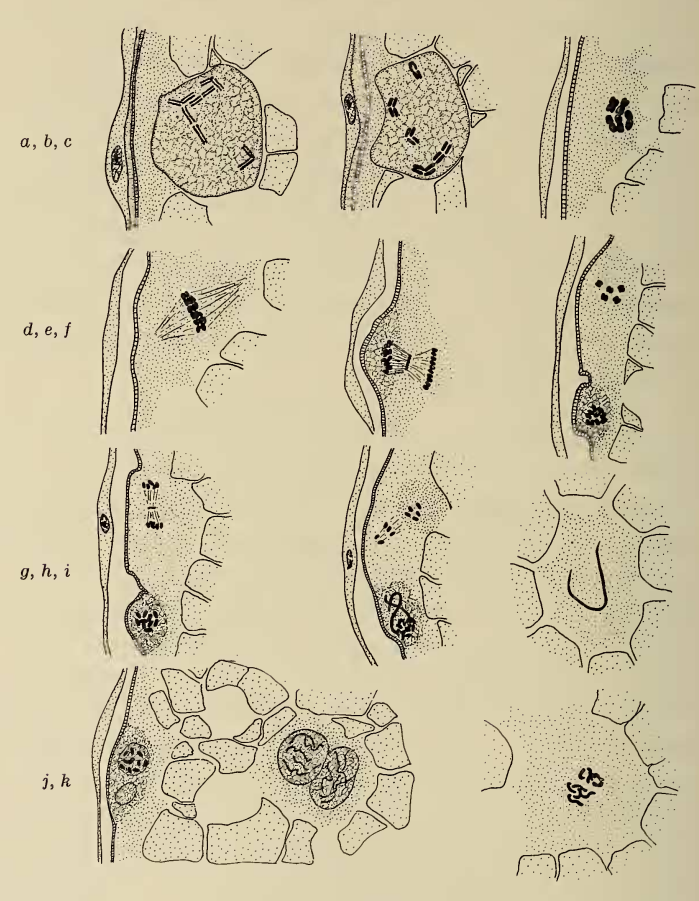


Abb. 7.

Reifeteilungen der Oocyten und Befruchtung.

a-b) Prophasen I, Chromosomentetraden, End zu End Paarung.
c) Prophase-Metaphase I, Einordnung der Tetraden in Metaphasenplatte.
d) Metaphase-Anaphase I.
e) Anaphase I.
f) Polkern I und Metaphase II, sekundäre Chromosomenpaarung.
g) Anaphase II.
h) Telophase II, Polkern I mit Spermium.
i) Spermium im Eizentrum.
j) Beginn der Befruchtung, links Polkernregion mit den Polkernen I und II.
k) Einstellen der Chromosomen in Metaphasenplatte der ersten Furchungsteilung.

a)-k) ca. 1000 × vergrössert.

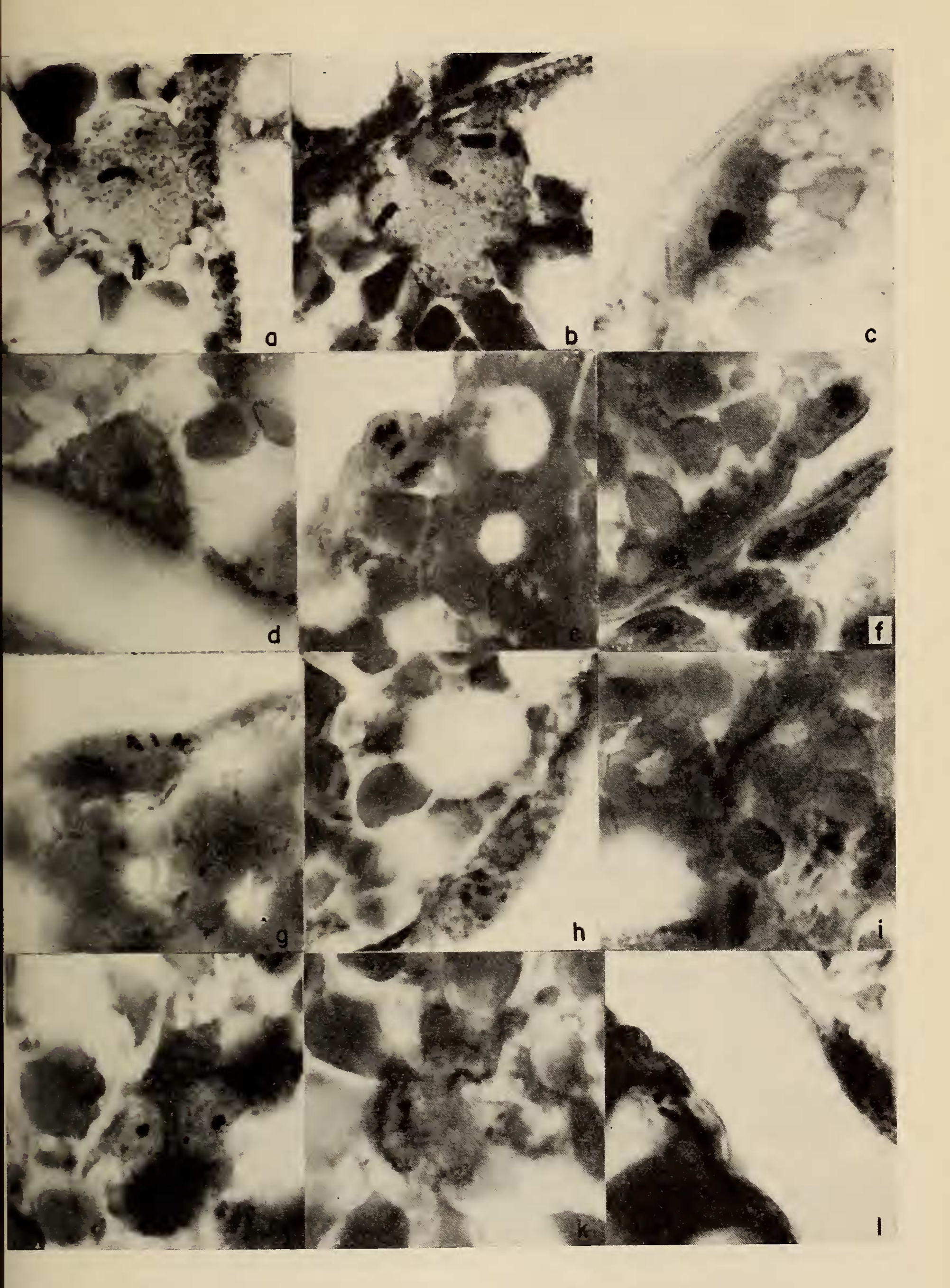


ABB. 8.

Reifeteilungen der Oocyten und Befruchtung.

a-b) Prophasen I.
c) Prophase-Metaphase I.
d) Metaphase-Anaphase I.
e) Anaphase I.
f) Telophase I-Metaphase II; rechts: Polkern I, links unten: sekundäre Chromosomenpaarung.
g) Anaphase II.
h) Polkerne I und II.
i) Spermium im Eizentrum.
j) Vorkerne in Annäherung.
k) Befruchtungsbeginn.
l) Spermium in Polkernregion.

a)-l) ca. 1000 × vergrössert.

Keimanlage und Serosa eindeutig zu unterscheiden. Erst in diesem Zeitpunkt sind auch die Interphasenkerne feulgenpositiv und zeigen beim Männchen die typische Unterteilung des Kerns in einen konzentrierten, heterochromatischen und einen aufgelokkerten, euchromatischen Anteil. Es ist jedoch anzunehmen, dass die Entscheidung Männchen oder Weibchen bereits früher erfolgt. So wurden z.B. unter den vier als eindeutig erkannten 16-Kernstadien in einem Fall neben 14 normalen Interphasekernen zwei anscheinend haploide Kerne, d.h. Kerne mit fünf kondensierten Chromosomen beobachtet, die Ausdruck einer männchentypischen vorzeitigen Kondensierung sein können. Im Übrigen zeigt bereits der Überblick über die Embryonalentwicklung der Männchen, der schon bei oberflächlichem Betrachten von Schnitten durch eiablagebereite Weibchen gewonnen werden kann, dass die in 5. 1. festgestellte normale Kernstruktur von Mitteldarm, Malpighigefässe, Thoraxmuskulatur und Fettgewebe beim Männchen sekundärer Natur ist. Nur Mycetocytenkerne und die Dotterkerne sind in keiner Phase der männlichen Embryonalentwicklung männchentypisch.

Zum Schluss sei noch darauf hingewiesen, dass bei überalterten Weibchen in einzelnen Oocyten bei Beginn der Degeneration ein und manchmal sogar mehrere hochpolyploide Kerne auftreten, die auf eine ungeregelte endo- und amitotische Tätigkeit des Oocytenkerns schliessen lassen, oder, weniger wahrscheinlich, eingewanderte Kerne des Follikelepithels darstellen.

5. 5. Die Ergebnisse der histologischen und cytologischen Untersuchungen

Die cytologische Kontrolle hat das Vorhandensein aller essentiellen Vorgänge des „Lecanoid systems" bei der untersuchten *Pl. citri* Population bestätigt, dazu aber auch neue Beobachtungen von einigen überraschenden Verhaltensweisen ermöglicht. Untersuchungsergebnisse und Schlussfolgerungen:

1. Die im Verlauf der Spermiogenese gebildeten Spermienbündel enthalten neben den 16 von den euchromatischen Kernen abstammenden Spermien auch Fragmente der heterochro-

matischen Kerne im Gegensatz zu den Spermienbündeln von *Ps. obscurus* (NUR).

2. Die Histogenese der Ovariolen erreicht, abhängig von der Ernährung (Wirtspflanze), einige Tage nach der Häutung zum Adultweibchen ein erstes und bei Ausbleiben der Begattung nach der Degeneration der ersten Ovariolen- und Eigeneration ein zweites, weniger ausgeprägtes Maximum.

3. Bei Verzögerung der Begattung bleiben in der Oogenese die Reifeteilungen vor Anaphase I und die Chorionbildung in der Sekretionsphase stehen. Sofort nach der Begattung geht die Oogenese normal weiter, sofern die Oocyte noch nicht in die Degenerationsphase eingetreten ist.

4. Es kann sowohl eine Besamung der Oocyte als auch eine der Polkernregion stattfinden, (Abb. 7 *h*, *i* und 8 *i*, *l*). Oozytenbesamung wurde während der Reifeteilungen, Polkernbesamungen bei Abschluss der Reifeteilungen und während der Befruchtung nie aber beide gleichzeitig festgestellt. Die Amphimixie ist sowohl bei besamter als auch bei unbesamter Polkernregion zu sehen. Eine Mitose des haploiden weiblichen Vorkerns wurde nie beobachtet. Angesichts der zwar seltenen Doppelbesamung der Polkernregion scheint es uns wahrscheinlicher, dass es sich bei der Polkernbesamung um einen zusätzlichen Vorgang handelt, als dass der unbefruchtete Eikern sich gynogenetisch weiterentwickelt.

5. Sei es, dass fakultative Doppelbesamung von Oocyte II und Polkernregion vorliegt, oder aber, dass das fertige Chorion der unbesamten Oocyte II nur noch eine Polkernbesamung zulässt, in beiden Fällen sind cytologische Unterschiede zwischen den Zygoten vorhanden, die mit den Alternativen, Männchen oder Weibchen, in Zusammenhang gebracht werden können.

6. Polkern I und Polkern II vereinigen sich während des Vierkernstadiums zu einem triploiden Kern, welcher im Achtkernstadium mit der ersten mitotischen Teilung beginnt. In dieser Phase konnten keine besamten und unbesamten Polkerne mehr unterschieden werden.

7. Die Heterochromatisierung des einen Chromosomensatzes bei den Kernen des männlichen Keimes wird in einigen Geweben rückgängig gemacht, und ist bei Dotter- und Mycetocytenkernen nie festzustellen.

6. DISKUSSION

Die im Verlauf dieser Untersuchungen von Brown und seinen Mitarbeitern Nelson-Rees, Nur und Chandra zum gleichen Problemkreis veröffentlichten Arbeiten vermitteln wesentliche neue Erkenntnisse über das „Lecanoid system“ und die Heterochromatisierung einzelner Chromosomen sowie die Funktion des Heterochromatins in der Coccidencytologie. Einen Überblick über diese Erkenntnisse gibt vor allem die zusammenfassende Publikation von Brown und Nur (1964).

Brown und seine Mitarbeiter fanden bei ihren Untersuchungen an verschiedenen Coccidenarten keine Hinweise für genetische Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Embryonen. Bei der parthenogenetischen Art *Pulvinaria hydrangeae* z.B. (Nur 1963) zeigen einige der Embryonen einen heterochromatischen Chromosomensatz, wie er für die Männchen verwandter bisexueller Arten typisch ist. Adulte Männchen sind für diese Art nicht beschrieben und es wird deshalb angenommen, dass diese Embryonen bereits auf einem frühen Entwicklungsstadium absterben. Die Bildung der diploiden Zygote erfolgt in der Weise, dass der aus zwei etwas modifizierten Reifeteilungen resultierende haploide Eikern sich mitotisch teilt und seine beiden Mitoseprodukte zum diploiden Zygotenkern verschmelzen. Die parthenogenetischen Weibchen mit $2n$ euchromatischen Chromosomen wie auch die im Verlauf der Ontogenese absterbenden Männchen entstehen somit aus homozygoten Zygoten. Brown und Nur (1964) glauben deshalb, dass die Weibchen beim „Lecanoid system“ zwei verschiedene Eitypen hervorbringen, deren einer die Heterochromatisierung eines haploiden Chromosomensatzes und die Entwicklung zum Männchen induziert. Die Ursache der Heterochromatisierung kann in der Verstärkung kleinster Chromosomenunterschiede bestehen, die ihrerseits von kleinsten Unterschieden in den vorangegangenen Entwicklungsvorgängen verursacht sein können. Einer der beiden haploiden Vorkerne der Eizelle kann z.B. aus dem Eicytoplasma

eine Substanz aufnehmen, die die Chromosomenstruktur verändert, die Heterochromatisierung bewirkt und die Entwicklung zum Männchen bestimmt. Die Variabilität der Sex Ratio erklären sich die Autoren als Variabilität in der Produktion verschiedener Eitypen unter dem Einfluss von Begattungsalter und Umweltfaktoren.

Es gilt nun zu überlegen, ob sich die Vorstellung von zwei verschiedenen Eitypen und dem Auftreten einer männchenbestimmenden Substanz im Plasma des einen Eityps durch einen geschlechtsbestimmenden Einfluss der Besamungsalternativen ersetzen lässt. Auf Grund der histologisch zu beobachtenden zeitlichen Variabilität des Spermien- und Oocytenangebots im Weibchen in der Zeitspanne von Begattung bis Ende der Eiablage ist es ohne weiteres möglich, die beobachtete Variabilität der Sex Ratio durch die besonderen Besamungsverhältnisse zu erklären. Das verständlicherweise grösste Angebot von frischen Spermien kurz nach der Begattung begründet unter diesen Umständen auch sofort, warum bei normalbegatteten Weibchen zu Beginn der Eiablage bevorzugt zu Männchen bestimmte Eier abgelegt werden. Übereinstimmung des auf Grund ökologischer Untersuchungsergebnisse postulierten primär geschlechtsbestimmenden, umweltabhängigen Faktors mit den Besamungsalternativen ist somit möglich. Gegen die Annahme einer männchenbestimmenden Wirkung der zusätzlichen fakultativen Polkernbesamung spricht aber, dass diese bis jetzt noch bei keiner andern Art mit „Lecanoid system“ beobachtet worden ist, und in diesen Fällen wieder auf die Vorstellung der Bildung verschiedener Eitypen durch das Weibchen zurückgegriffen werden muss. Zudem ist der Vorgang der Geschlechtsbestimmung mit zwei verschiedenen Eitypen wesentlich einfacher zu beschreiben als mit den Besamungsalternativen. Im ersten Falle ist die Substanz, welche die Heterochromatisierung bewirkt von der Mutterseite her bereits vor der Befruchtung im Ei vorhanden, z. B. im Plasma, das für den Plasmahof des männlichen Vorkerns bereitgestellt ist, und verleiht den väterlichen Chromosomen die Eigenschaft, unter bestimmten sich einstellenden Entwicklungsbedingungen heterochromatisch zu werden. Im zweiten Falle sind die Eier von der Mutterseite her gleichwertig und die Spermien bringen mit den väterlichen Chromosomen eine Heterochromatisierung ermöglichende Substanz mit. Bei Polkernbesamung

ist diese ein zweites Mal vorhanden, wird in der ersten Polkernmitose frei und verbindet sich mit den väterlichen Chromosomen von Furchungskernen so deren Heterochromatisierung bewirkend. Diese zweite Vorstellung deckt sich mit dem erstmaligen Auftauchen heterochromatischer Kerne im 16-Kernstadium nach der ersten Polkernmitose, ist gesamthaft betrachtet aber wesentlich komplizierter, da mehr unbekannte Vorgänge vorausgesetzt werden müssen, als bei der Substanztheorie von Brown.

Im Spezialfall der Stictococcinen führt nach Buchner (1954, 1962) der Nichtbefall von Oocyten mit Symbionten zur Bildung von Männchen. Die Stictococcinen zeigen aber keine Heterochromatisierung des einen Chromosomensatzes, wie das beim „Lecanoid system" der Fall ist, und zudem werden bei *Pl. citri* und verwandten Arten alle Oocyten eines Weibchens mit Symbionten versehen. Soll auch hier die Geschlechtsbestimmung mit Symbionten in Verbindung gebracht werden, so kann dies wiederum nur über eine Substanz im Sinne von Brown geschehen, die in diesem Falle vom Symbionten produziert würde. Wie unter solchen Bedingungen die Variabilität der Sex Ratio bzw. die Variabilität in der Produktion verschiedener Eitypen zu erklären ist, bleibt offen. Beobachtungen über einen verschieden starken Befall der Oocyten durch die Symbionten wurden keine gemacht.

Jeder Versuch, die festgestellte Variabilität der Sex Ratio in Abhängigkeit von der Zeit mit einem Einfluss der Symbionten oder der fakultativen Doppelbesamung zu erklären, führt sofort zu umständlichen Voraussetzungen. Wesentlich plausibler scheint eine Erklärungsmöglichkeit auf genetischer Basis.

Der fortlaufende Verlust des väterlichen Chromosomensatzes bei den Söhnen im „Lecanoid system" führt, verglichen mit Organismen vom normalen XX-XO-Typus, zu ganz anderen Allelfrequenzen innerhalb einer Kolonie. Unter der modellmässigen Vorstellung, zwei Allele (a^+ und a) eines Gens hätten keinen unterschiedlichen Einfluss auf die Fertilität, die Wahrscheinlichkeit der Entstehung für beide Geschlechter sei gleich und die Begattung wie auch die Verteilung der Chromosomen in der Reduktionsteilung der Oogenese sei rein zufällig, stellt sich bei der Kreuzung verschieden homozygoter Eltern das Allelgleichgewicht erst allmählich ein. Dieses Allelverhalten ist in Abbildung 9 dargestellt. Die Häufigkeiten der beiden Allele in den Nachkommenschaften

des verschieden homozygoten Elternpaares sind nicht konstant je $\frac{1}{2}$, sondern die Berechnung ergibt, dass das väterlicherseits eingekreuzte Allel der Häufigkeit $p = \frac{1}{3}$ und das mütterlicherseits

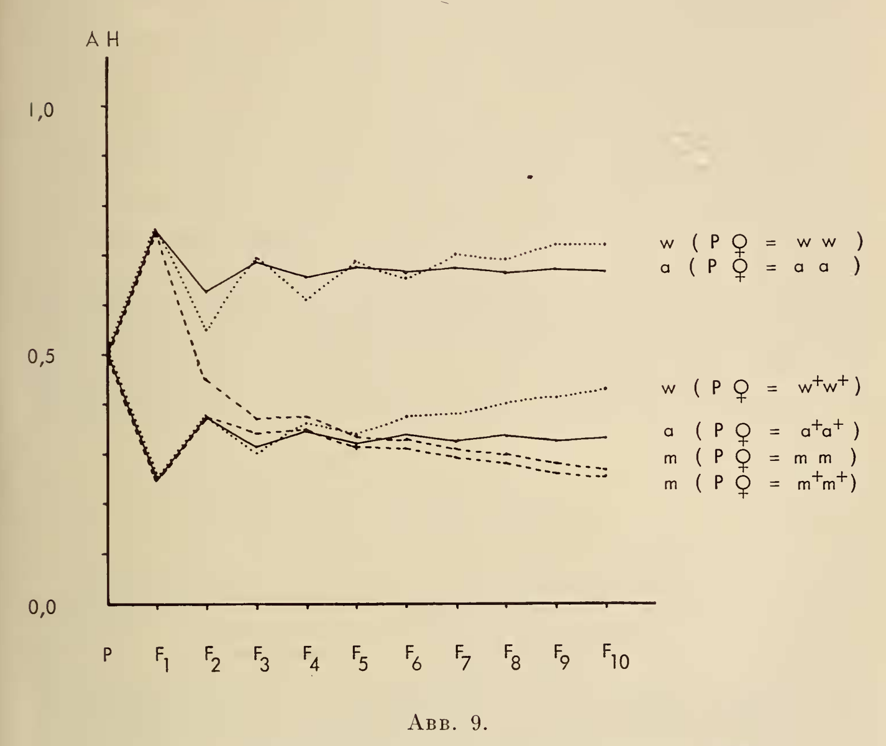


Abb. 9.

Fluktuation eines Alleles in Inzuchtlinien, wobei das Elternpaar P entweder ♀ aa × ♂ $a^+(a^+)$ oder ♀ a^+a^+ × ♂ a(a).

eingekreuzte einer solchen von $q = \frac{2}{3}$ entgegenstrebt. Wird das hypothetische Allelpaar a^+ und a durch ein entsprechendes Allelpaar m^+ und m ersetzt, in welchem das Allel m homozygot rezessiv mit einer Wahrscheinlichkeit $p = 0{,}8$ die Entwicklung der Zygote zum Männchen bewirkt, so folgt die Häufigkeit des Allels m in einer Kolonie dem oberen oder unteren gestrichelten Linienzug in Abb. 9., je nachdem ob das Allel mütterlicher- oder väterlicherseits eingekreuzt worden ist. Der obere und untere gepunktete Linienzug in Abb. 9. gibt das entsprechende Bild für ein Allel w, welches homozygot rezessiv mit einer Wahrscheinlichkeit $q = 0{,}8$ die Entwicklung der Zygote zum Weibchen bewirkt.

In Abbildung 10 schliesslich sind in gleicher Weise die relativen Männchenhäufigkeiten unter dem Einfluss solcher hypothetischer Allele für die ersten 10 Generationen einer Kolonie aufgetragen.

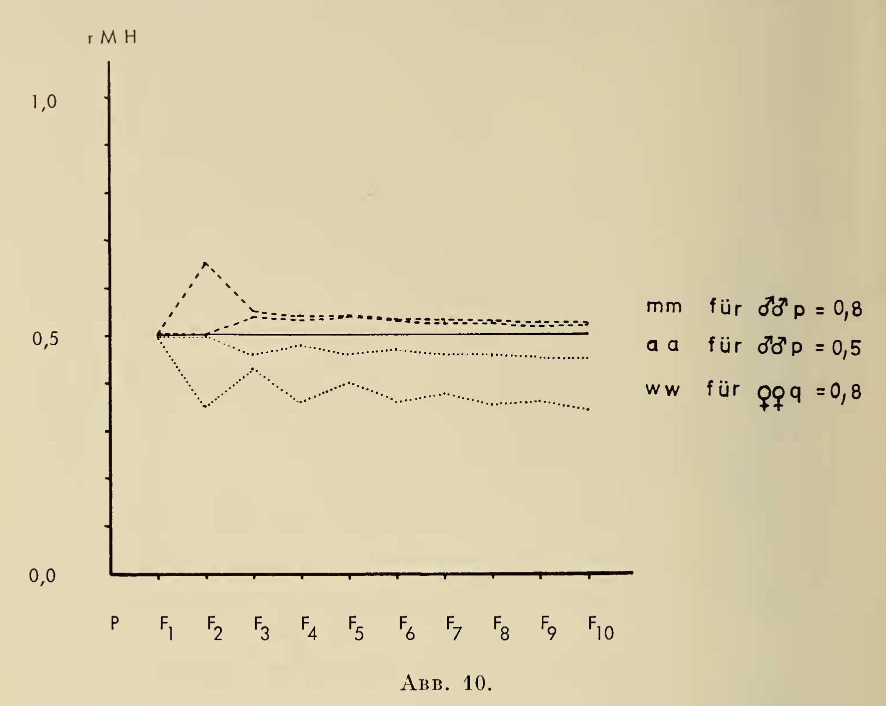


Abb. 10.

Die Variabilität der Sex Ratio in aufeinanderfolgenden Generationen einer Inzuchtlinie (Kolonie) unter dem Einfluss neutraler oder die Geschlechtsbestimmung beeinflussender Allele eines hypothetischen Gens.

Da nun wegen des grossen Vermehrungspotentials von *Pl. citri* die Zuchtkolonien (vgl. 2. 1.) in jeder Generation wieder auf einige wenige eierlegende Weibchen reduziert werden mussten, ist es klar, dass sich unter diesen Zuchtbedingungen nie ein Allelgleichgewicht einspielen konnte, und die festgestellte Abhängigkeit der Sex Ratio von der Zeit durch Fluktuationen der Allele verschiedener, die Geschlechtsbestimmung beeinflussender Gene erklärt werden kann.

Der Einfluss solcher Gene auf die Geschlechtsbestimmung liesse sich z. B. folgendermassen verstehen.

Für Lecanoiden darf, wie für andere bisexuelle Organismen eine bisexuelle Potenz der Gameten im Sinne von Hartmann (1956)

vorausgesetzt werden. Durch die Besonderheiten des „Lecanoid system" sind nun genetische Geschlechtsrealisatoren auf einem Entweder-Oder-Prinzip unmöglich geworden. Offen bleibt aber die Möglichkeit, dass verschiedene Allele eines oder mehrerer Gene im Ei quantitativ die Produktion einer Substanz steuern, die als Geschlechtsrealisator wirken kann. Beim Überschreiten einer bestimmten Konzentration könnte diese Substanz z. B. dafür sorgen, dass die väterlichen euchromatischen Chromosomen heterochromatisch werden, und die Entwicklung zum Männchen abläuft. Unter dieser Voraussetzung ist sofort einzusehen, dass ein von Weibchen zu Weibchen verschiedener Allelbestand die Sex Ratio der Nachkommenschaft primär bestimmt, wie dies im Anschluss an die ökologischen Untersuchungen gefordert worden ist. Wird weiter angenommen, dass sich die Substanz in den die Besamung erwartenden Eiern anreichert, so wird auch das Ansteigen der Männchenrate mit zunehmendem Alter der Eier verständlich.

7. ZUSAMMENFASSUNG

In ökologischen Untersuchungen über die Variabilität der Sex Ratio bei *Pl. citri* und in parallel dazu durchgeführten histologischen und cytologischen Untersuchungen werden folgende Feststellungen über die Variabilität der Sex Ratio und das Problem der Geschlechtsbestimmung bei *Pl. citri* gemacht (Über die Einzelergebnisse der ökologischen und cytologischen Untersuchungen orientieren die Kapitelzusammenfassungen 4. 4. und 5. 5.).

1. Lebenszyklus und Fertilität von *Pl. citri* sind unter optimalen Temperaturbedingungen von der Wirtspflanzenart deutlich abhängig. Die Abhängigkeit wird auf quantitative und qualitative Unterschiede in der Ernährung zurückgeführt, die für Dauer und Umfang der Ovariolenhistogenese und damit für die Lebensdauer und die Fertilität eines Weibchens massgebend sind (3. 1. und 3. 2.). Mit diesen Ernährungsunterschieden verknüpfte Schwankungen der Sex Ratio sind dagegen statistisch nicht gesichert, und dort wo sie auftreten unbedeutend verglichen mit der ohnehin auftretenden Variabilität der Sex Ratio (4. 4.).

2. Die Histogenese der Ovariolen erreicht, abhängig von der Ernährung, einige Tage nach der Häutung zum Adultweibchen ein erstes Maximum. Bei Ausbleiben der Begattung folgt 15—25 Tage später, nach dem Absterben der ersten Ovariolen- und Eigeneration, ein zweites weniger ausgeprägtes Maximum. Jede Verzögerung der Begattung über das erste Maximum hinaus, führt zu einem Fertilitätsverlust. Die statistisch signifikant nachgewiesene Variabilität der Sex Ratio in Abhängigkeit vom Begattungszeitpunkt steht in engem Zusammenhang mit der Histogenese der Ovariolen. Eine Begattung kurz vor ihrem Höhepunkt führt zu einer niedrigen, eine Begattung auf oder nach dem Höhepunkt zu einer höheren Sex Ratio.

3. Voraussetzung für die Reifeteilungen in der Oogenese ist die Begattung des Weibchens. Das Eindringen des Spermiums ins Ei wurde nicht beobachtet, wohl aber die Kernverschmelzung. Es kann ausserdem fakultativ eine Besamung der Polkernregion stattfinden, die bei grossem Spermien- und Oocytenangebot häufig ist und gegen Ende der Eiablage, wenn wenig Oocyten und Spermien vorhanden sind, immer seltener wird.

4. Auf Grund der ökologischen Untersuchungen über die Variabilität der Sex Ratio wird ein primär wirksamer Faktor oder Faktorenkomplex postuliert, der spätestens bei Eiablagebeginn die Sex Ratio in der Nachkommenschaft eines Weibchens bestimmt. Er ist individuell sehr variabel, von Umweltfaktoren, besonders von den Begattungsbedingungen, abhängig und könnte mit den Besamungsalternativen übereinstimmen.

5. Eine Erklärung der Variabilität der Sex Ratio durch die Begattungs- und Besamungsbedingungen wird unter Berücksichtigung der Ergebnisse von Brown und seinen Mitarbeitern diskutiert, und danach jedoch als wenig wahrscheinlich betrachtet.

6. Die Wiederholung verschiedener Versuchsgruppen zu verschiedenen Zeiten zeigt signifikante Unterschiede der Sex Ratio in Funktion der Zeit, und zwar so, dass nicht unterschiedliche Klimabedingungen dafür verantwortlich gemacht werden können. Wird angenommen, dass Gene mit verschiedenen Allelen existieren, die einen Einfluss auf die Geschlechtsbestimmung

ausüben, so lässt sich dieses Verhalten ohne weiteres mit ausserordentlichen Fluktuationen solcher Allele erklären, wobei die Fluktuationen auf das „Lecanoid system" und die Zuchtbedingungen zurückzuführen sind. Auch die individuellen Unterschiede und die Abhängigkeit der Sex Ratio vom Begattungsalter können als Wirkung solcher Allele verstanden werden.

Résumé

Au cours de recherches écologiques portant sur la variabilité du sex ratio chez *Pl. citri*, conduites parallèlement à des études histologiques et cytologiques, les résultats suivants ont été obtenus:

1. Dans des conditions optimales de température, cycle et fertilité dépendent de l'espèce parasitée. La nutrition a une influence prépondérante sur la durée et l'étendue de l'histogenèse des ovarioles. Il n'y a pratiquement pas de rapports entre la nutrition et les fluctuations du sex ratio. Par contre, il a été établi que le sex ratio subit l'influence d'un facteur temps, car il varie d'une génération à l'autre.

2. Le sex ratio dépend étroitement de l'histogenèse des ovarioles au moment où la copulation a lieu. Si cette dernière a lieu peu avant le développement maximum des ovarioles, le sex ratio est bas, mais si elle a lieu au moment ou après ce maximum, le sex ratio est élevé.

3. La copulation est nécessaire pour assurer la méiose des ovocytes. L'amphimixie a été observée plusieurs fois, de même qu'une pénétration additionnelle et facultative d'un spermatozoïde dans la région polaire.

4. La variation du sex ratio, en fonction des conditions de la fertilisation, est discutée en rapport avec les résultats de Brown et collaborateurs; elle est mise en doute.

5. Nous avons montré que la variabilité du sex ratio est fonction du facteur temps et dépend du moment où la copulation a lieu. De grandes différences individuelles du sex ratio ont également été observées dans la descendance de différentes femelles; ces phénomènes deviennent compréhensibles si l'on admet chez *Pl. citri*,

qui suit le système lécanoïde, la présence de gènes à allèles différents exerçant une influence limitée sur la détermination du sexe.

Summary

Ecological experiments about the variability of the sex ratio of *Pl. citri* with parallel histological and cytological experiments give the following results to the problem of sex determination.

1. Life cycle and fertility depend, optimal temperature conditions provided, on the species of the host plant. Nutrition has the main influence on duration and extent of the histogenesis of the ovarioles. There is practically no correlation between the variability of sex ratio and nutritional differences, whereas significant influence of a time factor is visible, since a variation of the sex ratio could be proved from one generation to the next.

2. The variability of the sex ratio in relation to the moment of copulation depends closely on the histogenesis of the ovarioles. Copulation shortly before the peak of histogenesis gives a lower sex ratio than copulation on or after this peak.

3. Copulation is necessary for meiosis of the oocytes. Amphimixis has been observed several times as well as an additional facultative penetration of spermatozoa into the polar region.

4. Variability of the sex ratio due to these different conditions of fertilization is discussed in connection with the results of Brown and his collaborators but is not regarded as very probable.

5. If we admit that there are genes with various alleles which have a limited function in sex determination, the influence of the above-mentioned time factor and of the time of copulation on the sex ratio as well as the great individual differences can be explained as consequences of the lecanoid system.

8. LITERATURVERZEICHNIS

Balachowsky, A. (1948). *Les cochenilles de France, d'Europe, du nord de l'Afrique, et du Bassin Méditerranéen. IV. Monographie des Coccoidea; Classifiaction-Diaspidinae (Première Partie).* Actualités sci. industr. 1054: 243-394.

BODENHEIMER F. S. und GUTTFELD, M. (1929). *Über die Möglichkeiten einer biologischen Bekämpfung von Pseudococcus citri in Palaestina.* Z. angew. Ent. Berlin 15, H. 1.

BROWN, S. W. (1959). *Lecanoid chromosome behaviour in three more families of the Coccoidea (Homoptera).* Chromosoma 10: 278-300.

— (1963). *The Comstockiella system of chromosome behaviour in the armored scale insects (Coccoidea: Diaspidoidae).* Chromosoma 14: 360-406.

— and BENNET, F. D. (1957). *On the sex determination in the diaspine scale insect Pseudaulacaspis pentagona (Targ.) (Coccoidea).* Genetics 42: 510-523.

— and NELSON-REES, W. A. (1961). *Radiation analysis of a lecanoid genetic system.* Genetics 46: 983-1007.

— and NUR, U. (1964). *Heterochromatic Chromosomes in the Coccids. The process of heterochromatization and the function of heterochromatin in coccid insects are reviewed.* Science 145: 130-136.

BUCHNER, P. (1954). *Endosymbiosestudien an Schildläusen. I. Stictococcus sjoestedti.* Z. Morph. Oekol. Tiere 43: 302-312.

— (1963). *Endosymbiosestudien an Schildläusen. VII. Weitere Beiträge zur Stictococcinensymbiose.* Z. Morph. Oekol. Tiere 52: 401-458.

CHANDRA, H. S. (1962). *Inverse meiosis in triploid females of the mealybug, Planococcus citri.* Genetics 47: 1441-1454.

— (1963). *Cytogenetic studies following high dosage paternal irradiation in the mealybug, Planococcus citri. I. Cytology of X_1 Embryos. II. Cytology of X_1 females and the problem of lecanoid sex determination.* Chromosoma 14: 310-329, 330-346.

DISSELKAMP, C. (1954). *Die Schildbildung der San-José Schildlaus.* Höfchen Briefe, 7, H. 3.

GRAY, H. E. (1954). *The development of the citrus mealybug, Pseudococcus citri.* Journ. econ. Ent. 47: 174-176.

HARTMANN, M. (1956). *Die Sexualität.* 2. Aufl. Stuttgart. Gustav Fischer.

HUGHES-SCHRADER, S. (1925). *Cytology of hermaphroditism in Icerya purchasi (Coccidae).* Z. wiss. Biol. B., Z. Zellforsch. mik. Anat. 2: 265-292.

— (1935). *The chromosome cycle of Phenacoccus (Coccidae).* Biol. Bull. 69: 462-468.

— (1948). *Cytology of Coccids (Coccoidea-Homoptera).* Adv. in Genetics 2: 127-203.

James, H. C. (1937). *Sex ratios and the status of the male in Pseudococcinae.* Bull. ent. Res. 28: 429-461.

— (1938). *The effect of the humidity of the environment on sex ratios from overaged ova of Pseudococcus citri.* Proc. roy. ent. Soc. London, Ser. A. gen. Ent. 13: 73-79.

— (1939). *Further studies on the reproductive methods of certain species of Coccidae (Homoptera).* Trans. roy. ent. Soc. London 89: 569-577.

Lindemann, C. (1948). *Beitrag zur Ernährungsphysiologie der Blattläuse.* Z. vergl. Physiol. 31.

Maltais, J. B. (1952). *A simple apparatus for feeding aphids aseptically on chemically defined diets.* Canadian Ent. 91: 336-340.

Nelson-Rees, W. A. (1960). *A study of sex predetermination in the mealybug Planococcus citri (Risso).* Journ. exp. Zool. 144: 111-137.

— (1961). *Modification of the ovary of the mealybug Planococcus citri (Risso), due to aging.* Journ. exp. Zool. 146: 85-91.

— (1962). *The effects of radiation damaged heterochromatic chromosomes on male fertility in the mealybug Planococcus citri (Risso).* Genetics 47: 661-683.

Nur, U. (1962a) *A supernumerary chromosome with an accumulation mechanism in the lecanoid genetic system.* Chromosoma 13: 249.

— (1962b). *Sperms, sperm bundles and fertilisation in mealybug, Pseudococcus obscurus (Essig.) (Homptera: Coccoidea).* Journ. Morph. 111: 173-199.

— (1963). *Meiotic parthenogenesis and heterochromatization in a soft scale, Pulvinaria hydrangeae (Coccoidea: Homoptera).* Chromosoma 14: 123-139.

— and Chandra, H. S. (1963). *Interspecific hybridization and gynogenesis in mealybugs.* Amer. Nat. 97: 197-202.

Pflugfelder, O. (1936). *Vergleichend anatomische, experimentelle und embryologische Untersuchungen über das Nervensystem und die Sinnesorgane der Rhynchoten.* Zoologica 34: 1-102.

Schrader, F. (1921). *The chromosomes of Pseudococcus nipae.* Biol. Bull. 40: 259-270.

— (1923a). *A study of the chromosomes in three species of Pseudococcus.* Arch. Zellforsch. 17: 45-62.

— (1923b). *The sex ratio and oogenesis of Pseudococcus citri.* Z. indukt. Abstamm. u. Vererbungslehre 30: 163-182.

Thomsen, M. (1927). *Studien über die Parthenogenese bei einigen Cocciden und Aleurodiden.* Z. Zellforsch. mik. Anat. 5: 1-116.

Weber, E. (1961). *Grundriss der biologischen Statistik.* 4. Aufl., Jena, Gustav Fischer.

9. URLISTEN DER AUSZÄHLUNGSVERSUCHE

9. 1. Versuche zur Variabilität der Fertilität

Versuch 1: Die Fertilität in Abhängigkeit von der Wirtspflanzenart bei grosser Befallsdichte

Nr.	KARTOFFEL		COLEUS	
	Et	Nt	Et	Nt
1	504	572	394	358
2	471	468	372	295
3	453	448	365	293
4	439	439	331	293
5	345	428	305	232
6	332	365	263	228
7	304	354	259	221
8	301	335	234	220
9	290	330	228	209
10	267	327	227	208
11	265	326	225	204
12	264	307	219	199
13	261	305	209	199
14	260	290	204	194
15	258	280	183	187
16	257	265	175	174
17	255	263	171	174
18	243	260	165	172
19	218	259	162	170
20	214	258	159	167
21	211	237	151	156
22	206	235	141	153
23	193	226	139	141
24	189	207	136	126
25	186	206	125	123
26	175	206	122	109
27	151	189	94	100
28	140	140	91	85
29	139	116	72	74
30	136	111	71	69

Versuch 2: Die Fertilität von *Pl. citri* unter speziell günstigen Verhältnissen

Nr.	UNGESTÖRT		GESTÖRT		GETRENNT	
	K	C	K	C	K	C
1	814	718	824	581	845	609
2	707	546	729	538	763	563
3	670	513	714	493	631	547
4	586	426	650	477	614	432
5	577	375	591	450	611	404
6	566	330	557	384	478	389
7	538	309	542	336	474	387
8	483	295	483	318	445	373
9	350	283	439	279	432	358
10	348	273	434	227	420	336

Versuch 3: Die Abhängigkeit der Fertilität und des Gewichts bei Eiablagebeginn vom Begattungsalter der Weibchen

Nr.	0		6		12		20		30		50	
	mg	Et	mg	Et	mg	Et	mg	Et	mg	Et	mg	Et
1	1,20	156	0,60	68	1,45	215	1,10	131	0,60	63	1,05	36
2	1,30	188	0,85	114	1,50	225	1,25	123	0,75	68	1,20	55
3	1,35	149	1,00	134	1,60	197	1,35	160	1,00	106	1,75	110
4	1,60	222	1,40	155	2,00	251	2,00	282	1,10	104	2,30	203
5	1,60	235	1,60	234	2,10	313	2,35	257	1,15	118	2,40	217
6	1,70	222	2,20	282	2,30	334	2,50	254	1,30	143	2,65	253
7	1,85	239	2,35	348	2,60	294	2,50	344	1,50	245	2,80	201
8	1,95	264	2,65	378	2,65	407	2,60	295	1,70	170	3,05	208
9	2,60	414	2,90	340	2,85	426	2,95	411	1,70	174	3,60	228
10	4,10	658	3,30	529	3,10	377	4,05	436	1,95	117	4,15	217

9. 2. Versuche zur Variabilität der Sex Ratio

Versuch 2*a*: Die Sex Ratio in der Nachkommenschaft von unter speziell günstigen Umweltbedingungen aufgewachsenen Weibchen

Nr.	KARTOFFEL			COLEUS		
	Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH
1	814	357	0,437	718	32	0,045
2	707	219	0,310	546	213	0,390
3	670	239	0,357	513	60	0,116
4	586	88	0,150	426	29	0,068
5	577	135	0,235	375	99	0,264
6	566	46	0,082	330	152	0,461
7	538	188	0,350	309	68	0,220
8	483	25	0,055	295	40	0,136
9	350	147	0,420	283	95	0,336
10	348	69	0,198	273	137	0,502

Versuch 1*a*: Die Variabilität der Sex Ratio in den beiden Zuchtkolonien auf Coleus und Kartoffel

Nr.	KARTOFFEL			COLEUS		
	Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH
1	572	197	0,345	358	147	0,411
2	468	206	0,440	295	153	0,518
3	448	213	0,476	293	162	0,553
4	439	160	0,365	293	129	0,441
5	428	160	0,374	232	143	0,616
6	365	145	0,397	228	87	0,382
7	354	138	0,390	221	77	0,349
8	335	148	0,442	220	96	0,437
9	330	135	0,409	209	107	0,512
10	327	106	0,324	208	80	0,385
1	326	136	0,417	204	90	0,442
2	307	112	0,365	199	83	0,417
3	305	123	0,404	199	76	0,382
4	290	146	0,503	194	73	0,376
5	280	133	0,475	187	122	0,652
6	265	93	0,351	174	114	0,655
7	263	116	0,441	174	76	0,437
8	260	89	0,342	172	86	0,500
9	259	124	0,479	170	75	0,441
20	258	112	0,434	167	77	0,461
1	237	97	0,410	156	70	0,449
2	235	91	0,387	153	72	0,471
3	226	93	0,412	141	67	0,475
4	207	90	0,435	126	44	0,350
5	206	102	0,495	123	68	0,553
6	206	92	0,446	109	52	0,477
7	189	20	0,106	100	58	0,580
8	140	69	0,493	85	58	0,683
9	116	45	0,388	74	38	0,514
30	111	48	0,433	69	38	0,551

Versuch 4: Die Variabilität der Sex Ratio in Abhängigkeit von der Begattung

Nr.	1			2			3			4			5		
	Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH
1	683	173	0,253	284	103	0,363	534	358	0,670	339	10	0,030	382	285	0,746
2	534	290	0,543	252	87	0,345	487	92	0,189	309	52	0,168	348	177	0,509
3	357	172	0,482	240	107	0,446	370	190	0,514	272	68	0,250	211	89	0,422
4	322	33	0,102	232	94	0,405	353	72	0,204	265	90	0,340	204	118	0,578
5	316	138	0,437	227	72	0,317	262	119	0,454	260	16	0,062	163	39	0,239
6	293	68	0,232	221	72	0,326	242	90	0,372	235	125	0,532	151	133	0,881
7	286	20	0,070	184	49	0,266	187	111	0,594	225	17	0,076	135	52	0,385
8	281	42	0,149	146	28	0,192	182	62	0,341	215	41	0,191	114	78	0,684
9	281	93	0,331	130	30	0,231	169	88	0,521	207	105	0,507	112	44	0,393
10	268	133	0,496	108	25	0,231	115	45	0,397	180	64	0,356	102	42	0,412
11	268	114	0,425				93	44	0,473	140	48	0,343	90	39	0,433
12	252	44	0,175				84	51	0,607	118	16	0,136			
13	228	54	0,237				66	33	0,500						
14	207	28	0,135				57	32	0,561						
15	153	24	0,157				50	26	0,520						

Versuch 5: Die Variabilität der Sex Ratio auf C und K in verschiedenen Kolonien und zu verschiedenen Zeiten

		WIEDERHOLUNGEN								
		I			II			III		
	Nr.	Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH
	1	471	197	0,418	538	199	0,370	472	172	0,364
	2	463	137	0,296	321	58	0,181	437	196	0,448
	3	426	167	0,392	228	79	0,346	398	123	0,309
	4	358	180	0,504	205	44	0,214	359	86	0,240
KARTOFEL	5	337	179	0,532	193	61	0,316	323	132	0,409
	6	332	173	0,522	187	32	0,171	280	110	0,392
	7	278	111	0,399	165	33	0,200	207	65	0,314
	8	204	71	0,348	158	74	0,468	202	49	0,242
	9	145	63	0,434	149	69	0,464	194	54	0,284
	10	97	62	0,639	130	92	0,708	181	86	0,475
	1	258	129	0,500	257	89	0,346	210	102	0,486
	2	200	105	0,525	225	106	0,472	175	87	0,497
	3	198	86	0,435	209	86	0,412	170	81	0,476
	4	189	87	0,461	177	81	0,458	164	79	0,482
	5	188	92	0,490	167	76	0,455	161	76	0,472
COLEUS	6	184	83	0,452	166	62	0,374	155	76	0,491
	7	179	81	0,453	154	85	0,552	136	36	0,265
	8	177	105	0,593	133	49	0,369	127	53	0,418
	9	133	50	0,376	123	59	0,480	123	58	0,472
	10	120	51	0,425	103	42	0,408	105	41	0,390

Versuch 6: Die Variabilität der Sex Ratio bei unterschiedlicher Ernährung der Wirtspflanze mit verschiedenen Nährlösungen

Nr.	NPK			NK			NP			PK			KONTROLLE		
	Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH	Nr	aMH	rMH	Nt	aMH	rMH
1. 1	408	145	0,355	394	2	0,005	426	47	0,110	343	36	0,105	335	129	0,385
2	339	85	0,251	380	135	0,356	274	116	0,424	315	173	0,549	257	107	0,416
3	244	68	0,278	245	66	0,270	247	67	0,271	306	18	0,059	252	73	0,290
4	243	11	0,045	221	40	0,181	239	24	0,100	292	47	0,164	245	76	0,310
5	230	25	0,108	220	31	0,141	222	89	0,401	285	35	0,123	229	75	0,328
6	230	55	0,239	218	31	0,142	188	39	0,208	260	48	0,184	200	30	0,150
7	184	41	0,223	192	48	0,250	144	15	0,104	220	42	0,191	135	40	0,296
8	180	13	0,072	186	39	0,210	132	49	0,371	218	76	0,352	117	62	0,530
9	159	27	0,170	179	42	0,234	124	32	0,262	177	51	0,288	114	28	0,246
1. 10	83	23	0,277	108	21	0,194	72	8	0,111	163	47	0,288	108	39	0,361
2. 1	306	88	0,288	408	202	0,495	311	76	0,244	362	138	0,381	362	190	0,525
2	289	81	0,280	317	160	0,505	255	36	0,141	312	46	0,147	336	111	0,330
3	240	65	0,271	298	111	0,372	229	97	0,424	257	93	0,366	284	103	0,363
4	232	51	0,220	287	76	0,265	229	108	0,472	252	87	0,345	280	126	0,450
5	228	107	0,469	275	140	0,509	224	46	0,205	208	108	0,519	262	77	0,294
6	203	88	0,433	238	64	0,269	224	125	0,558	198	65	0,328	252	56	0,222
7	201	99	0,492	145	73	0,503	166	69	0,416	179	63	0,352	227	129	0,568
8	190	65	0,271	129	26	0,202	97	37	0,381	175	66	0,376	204	51	0,250
9	142	68	0,479	106	22	0,208	66	21	0,318	153	73	0,477	149	86	0,577
2. 10	112	51	0,456	83	28	0,337	16	6	0,375	54	21	0,389	105	46	0,438

